

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ANALÝZA VYBRANÝCH NUTRIČNÍCH PARAMETRŮ V NOVÝCH  
ODRŮDÁCH ANGREŠTŮ

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Bc. JANA NOVÁKOVÁ

BRNO 2013



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

## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	<b>FCH-DIP0749/2012</b>	Akademický rok: <b>2012/2013</b>
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	<b>Bc. Jana Nováková</b>	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (N2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí práce	<b>RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.</b>	
Konzultanti:	Ing. František Paprštejn, CSc.	

### Název diplomové práce:

Analýza vybraných nutričních parametrů v nových odrůdách angreštů

### Zadání diplomové práce:

Teoretická část:

- 1) Stručná charakteristika angreštu, účinných látek v něm obsažených a jeho využití v potravinářství
- 2) Anthokyany, jejich vlastnosti a využití v potravinářském průmyslu, metody stanovení
- 3) Vitamin C, jeho vlastnosti a význam, metody stanovení
- 4) Celková antioxidační kapacita, metody jejího stanovení

Experimentální část:

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

### Termín odevzdání diplomové práce: 3.5.2013

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

-----  
Bc. Jana Nováková  
Student(ka)

-----  
RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2013

-----  
prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce se zabývá novými odrůdami angreštu. V teoretické části je angrešt charakterizován z biologického hlediska, co do obsahu zdraví prospěšných látek a z hlediska potravinářské technologie. Dále se teoretická část věnuje hlavním zkoumaným nutričním parametrům: vitamínu C, anthokyanům a antioxidační aktivitě.

V experimentální části byl změřen obsah hmotnostní sušiny a refraktometrické sušiny. Vitamin C byl měřen pomocí HPLC, anthokyany pomocí pH diferenciální metody a pro stanovení antioxidační aktivity byla zvolena metoda podle Kanedy neboli DPPH.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

angrešt, anthokyany, vitamín C, výživa, zdraví, nové odrůdy, HPLC, chromatografie, stanovení, *Grossularia*, *Ribes*

## **ABSTRACT**

Diploma thesis deals with the new varieties of gooseberries. The theoretical part characterizes gooseberry from a biological point of view, what is the content of healthful nutrients and states food technology aspects. Furthermore, the theoretical part deals with the main parameters examined nutrition: vitamin C, anthokyanum and antioxidant activity.

In the experimental part was measured both weight solids content and soluble solids. Vitamin C was measured by HPLC, anthocyanins using a pH differential method and for antioxidant activity determination was selected method by Kanedy known also as DPPH.

## **KEYWORDS**

gooseberry, anthocyanins, vitamin C, nutrition, health, new varieties, HPLC, chromatography, determination, *Grossularia*, *Ribes*

NOVÁKOVÁ, J. *Analýza vybraných nutričních parametrů v nových odrůdách angreštů*.  
Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 96 s. Vedoucí diplomové  
práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D..

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

*Děkuji tímto své vedoucí, RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D., za vedení při vypracovávání diplomové práce a za vstřícný, lidský a chápavý přístup. Dále Ing. Jitce Cetkovské za pomoc při analýze vitamínu C. Jsem vděčná své rodině a přátelům za podporu a blízkost během studia. Můj největší dík patří mému Bohu, Ježíši Kristu, který mi pomohl a pomáhá nejvíce ze všech. Je stále se mnou, nikdy mě neopustí a jeho láska a milost mi dávají sílu a radost v dobrých i těžkých chvílích.*

## OBSAH

ABSTRAKT .....	3
KLÍČOVÁ SLOVA .....	3
ABSTRACT.....	4
KEYWORDS .....	4
PROHLÁŠENÍ.....	5
PODĚKOVÁNÍ .....	5
1. Úvod.....	8
2. Teoretická část .....	9
2.1 Angrešt.....	9
2.1.1 Obecná charakteristika.....	9
2.1.2 Historie a současnost.....	9
2.1.3 Taxonomické zařazení .....	10
2.1.4 Pěstování .....	11
2.1.4 Botanická charakteristika .....	15
2.1.6 Pomologie vybraných odrůd .....	19
2.1.7 Účinné látky .....	22
2.1.8 Potravinářské využití .....	27
2.2 Anthokyany .....	29
2.2.1 Obecná charakteristika a klasifikace.....	29
2.2.2 Struktura.....	31
2.2.3 Fyzikálně chemické vlastnosti .....	33
2.2.4 Fyziologie a výživa .....	35
2.2.5 Využití v potravinářství .....	35
2.2.6 Anthokyany a angrešt .....	36
2.2.7 Metody stanovení anthokyanů .....	37
2.3 Kyselina askorbová .....	41
2.3.1 Historie.....	41
2.3.2 Vlastnosti a reaktivita .....	41
2.3.3 Fyziologie a výživa .....	45
2.3.4 Využití v potravinářství .....	46
2.3.5 Výskyt vitamínu C .....	48
2.3.6 Metody stanovení .....	49
2.4 Antioxidační aktivita.....	51
2.4.2 Fyziologie a výživa .....	52

2.4.3	Metody stanovení .....	52
3.	Experimentální část.....	55
3.1	Použité vzorky .....	55
3.2	Laboratorní vybavení .....	55
3.2.1	Pomůcky .....	55
3.2.2	Přístroje .....	56
3.2.3	Chemikálie .....	56
3.3	Stanovení vybraných nutričních faktorů .....	57
3.3.1	Gravimetrické stanovení sušiny .....	57
3.3.2	Refraktometrické stanovení sušiny .....	57
3.3.3	Stanovení anthokyanů pH diferenciální metodou .....	58
3.3.4	Stanovení vitamínu C pomocí HPLC .....	59
3.3.5	Stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH .....	60
4.	Vyhodnocení výsledků a diskuze.....	61
4.1	Gravimetrické stanovení sušiny .....	61
4.2	Refraktometrické stanovení sušiny .....	63
4.3	Stanovení anthokyanů pH diferenciální metodou.....	66
4.4	Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC .....	68
4.5	Stanovení antioxidační kapacity pomocí DPPH .....	71
5.	Závěr .....	74
6.	Seznam použitých zdrojů .....	76
7.	Seznam použitých zkratk .....	81
8.	Seznam příloh .....	82
9.	Přílohy.....	83
	Příloha 1. Členění konzervářských výrobků a základní požadavky na jejich jakost. 83	
	Příloha 2. Recepty na domácí zpracování angreštu.....	84
	Příloha 3. Podrobné hodnoty pro gravimetrické stanovení sušiny .....	87
	Příloha 4. Podrobné hodnoty pro refraktometrické stanovení sušiny. ....	88
	Příloha 5. Podrobné hodnoty pro stanovení anthokyanů.....	89
	Příloha 6. Podrobné hodnoty pro stanovení vitamínu C. ....	91
	Příloha 7. Podrobné hodnoty pro kalibrační přímku 1 a kalibrační přímku 2..	93
	Příloha 8. Podrobné hodnoty pro použitá ředění Invicty 2011, Invictu 2012 a výpočet zhášecí aktivity DPPH.....	94

# 1. ÚVOD

---

V současné době lze mezi spotřebiteli pozorovat trend týkající se zdravé výživy, jak dokládají oddělení BIO potravin v supermarketech a prosperující trh s potravinovými doplňky. Pozornost se upírá na rostlinné antioxidanty pocházející ze zahraničí, ačkoli tuzemské plodiny (borůvky, ostružiny, černý rybíz atd.) jsou rovněž účinné. Vitamín C je často přijímán ve formě suplementů a nikoli čerstvého ovoce, ačkoli biologická dostupnost vitamínu C z umělých preparátů se ukazuje nižší než u ovoce. Důvodem tohoto chování je zřejmě nízká informovanost obyvatelstva a všeobecná vyšší důvěra v dražší, synteticky vyrobené či cizokrajné produkty spojená s jejich větší atraktivitou.

Tyto a další faktory zapříčiňují poměrně malou oblíbenost angreštu a dalšího drobného ovoce, s výjimkou drobných pěstitelů. Přitom si však co do obsahu významných nutrientů nezadá se zahraničními, marketingem propagovanými druhy. Angrešt je poměrně pěstitelsky nenáročný, při volbě vhodné odrůdy odolává americkému padlí angreštovému, které bylo do nedávna velkou hrozbou pro rostliny angreštu, a na vhodném stanovišti poskytuje hojnou a pravidelnou odrůdu. To vše spolu s bohatým výživovým charakterem, nízkou kalorickou hodnotou a možností různých způsobů domácího zpracování předurčuje angrešt k větší popularitě, než jaké se mu dostává v současnosti.

Experimentální část diplomové práce si klade za úkol ověřit hodnotu vybraných nutričních parametrů. Konkrétně byly zvoleny hmotnostní sušina poukazující na podíl vody versus podíl rozpustných a nerozpustných látek (sacharidy, vláknina, pektiny, vitamíny atd.), refraktometrická sušina a v neposlední řadě vitamín C, důležitý hydrofilní antioxidant s pozitivním dopadem na imunitu a další fyziologické pochody. Dále byly stanoveny anthokyaniny, další z řady antioxidantů. Celkové antioxidanty byly změřeny pomocí metody podle Kenedy neboli DPPH, která udává tzv. antioxidační aktivitu. Protože byla změřena u zelenoplodé odrůdy *Invicta*, u žlutých a červených bude ještě vyšší, než jak je uvedeno v diplomové práci.

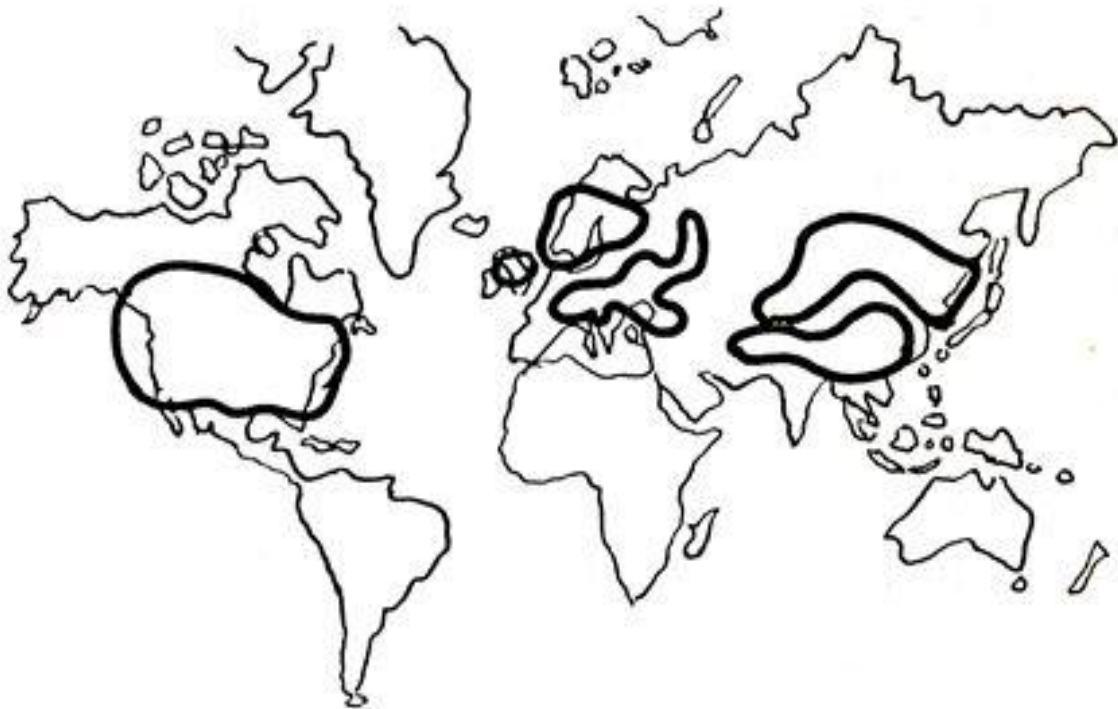
## 2. TEORETICKÁ ČÁST

---

### 2.1 Angrešt

#### 2.1.1 Obecná charakteristika

Srstka angrešt je na našem území dobře známá rostlina, která pomologicky patří mezi drobné ovoce – bobuloviny [1]. Jeho produkce je celosvětově nižší než u červeného a černého rybízu. Největšími pěstiteli na světě jsou Polsko, Maďarsko, Pobaltské republiky, Slovensko a Česká republika [2]. V našich končinách má angrešt dlouhou tradici a dříve patřil k velice oblíbeným druhům ovoce. O jeho hojném rozšíření v minulosti svědčí velké množství lidových názvů. Mezi dochované patří například chlupáček, chlupatý či zelený jahody, chlupatky, chlupěnky, měchovky, polky a další [3].



Obr. 1. Mapa světového rozšíření angreštu [4].

#### 2.1.2 Historie a současnost

První zmínky o angreštu pocházejí z 12. století, kdy je pod označením Grossielier uveden ve francouzské knize Žalmů. V Rusku jej zřejmě pěstovali již v 11. století v klášterech a v 15. století kolem Moskvy. V tomto období se již o angreštu množí zmínky pocházející z různých

koutů Evropy, především z Francie, Německa a Velké Británie, kde se v 16. století stává nejoblíbenějším ovocem a je vyšlechtěn hned do několika odrůd [4, 5].

První relevantní zmínku o angreštu z českých zemí nalezneme v latinsky psaném Herbáři doktora Petra Ondřeje Mathioliho, který vytvořil za svého působení v Praze v polovině 16. století. Angrešt zde zmiňuje pod názvem Zelené čili Chlupaté jahody a popisuje jej botanicky i co do účinků. Rozlišuje dva druhy angreštu: lesní a domácí. Nechybí ani dobové recepty na jeho vnitřní a vnější užívání. Rozdrcené zelené listy se užívaly na zmírnění bolesti při obkládání nebo na vypuzování ledvinových kamenů při požívání ve formě nápoje; bobule poté proti nechutenství nebo naopak při nutkavých chutích u těhotných žen, stejně tak jako na léčbu určitých sexuálních onemocnění [6]. Je otázkou, zda by náš organismus reagoval stejně, protože je – na rozdíl od těl našich předků – ovlivněn odlišným životním stylem a stravou s chemickými příměsemi.

Ve větším měřítku se v Čechách a na Slovensku začal angrešt pěstovat až v 19. století zásluhou dvou známých mužů – ovocnáře J. Procheho a školkaře J. Šámala. Popisují štěpování angreštu na meruzalku zlatou, které se později rozšířilo do Německa [5, 6].

V současnosti u nás angrešt není tak oblíben jako rybíz, ačkoli nabízí některé přednosti:

- netrpí na rozdíl od velkoplodých odrůd rybízu na jarní mrazíky
- jeho sklizeň nevyžaduje tolik ruční práce
- může se sklízet postupně, protože má několik období zralosti
- lépe se dopravuje [4].

Hlavním důvodem menší popularity je především invaze padlí amerického, které bylo do Evropy zavlečeno počátkem 20. století. Podle pamětníků se do té doby pěstoval angrešt ve vesnicích na Vysočině téměř na každé zahradě, od té doby jej však nalézáme pouze velmi sporadicky. Další nepříjemností u angreštu v porovnání s rybízem jsou jeho trny, avšak v současnosti může pěstitel vybírat i mezi několika beztrnnými odrůdami, kterých díky práci šlechtitelů jistě ještě přibude [4, 7, 8].

Díky mnoha stům letům tradice a obliby však pochází většina ověřených odrůd angreštu právě od nás, z území bývalého Československa, a z Anglie [5].

### 2.1.3 Taxonomické zařazení

Angrešt evropský lze v literatuře najít pod názvy *Ribes uva-crispa* [L.] Mill., *Ribes grossularia*, *Grossularia uva-crispa* a *Grossularia reclinata* [L.] Mill. [1, 3, 4, 9, 10, 11].

Toto nejednotné názvosloví zapříčiňuje rozdílné pohledy na taxonomické zařazení evropského angreštu, znázorněné v Tab. 1. Tabulka demonstruje nejednotný přístup systematických botaniků k fylogenezi angreštu evropského. Je ji nutno chápat ve smyslu řádků, nikoli sloupců.

Tab. 1. Taxonomické zařazení angreštu evropského. Vytvořeno podle [1, 5, 14, 19].

Říše	Rostliny ( <i>Plantae</i> )	
Podříše	Rostliny cévnaté ( <i>Tracheobionta</i> )	
Nadoddělení	Semenné rostliny ( <i>Spermatophyta</i> )	
Oddělení	Krytosemenné ( <i>Magnoliophyta</i> )	
Třída	Nižší dvouděloné rostliny ( <i>Magnoliopsida</i> )	Vyšší dvouděložné rostliny ( <i>Rosopsida</i> )
Podtřída	Rosidae	
Řád	Růžotvaré ( <i>Rosales</i> )	Lomikamenotvaré ( <i>Saxifragales</i> )
Čeleď	Meruzalkovité, Srstkovité ( <i>Grossulariaceae</i> )	Lomikamenovité ( <i>Saxifragaceae</i> )
Rod	Meruzalka ( <i>Ribes L.</i> )	Angrešt ( <i>Grossularia L.</i> )
Druh	Angrešt evropský ( <i>Ribes uva-crispa</i> , <i>Ribes grussularia</i> )	Angrešt evropský ( <i>Grossularia reclinata [L.] Mill.</i> , <i>Grossularia uva-crispa</i> )

Některé zdroje dělí čeleď *Grossulariaceae* do dvou podčeledí: *Robsonia* s prašníky žláznatými a *Grossularia* (*Eugrossularia Engl.*) s prašníky nežláznatými [1, 9], jiné uvádí *Grossularia uva-crispa* jako poddruh *Grossularia reclinata* [4].

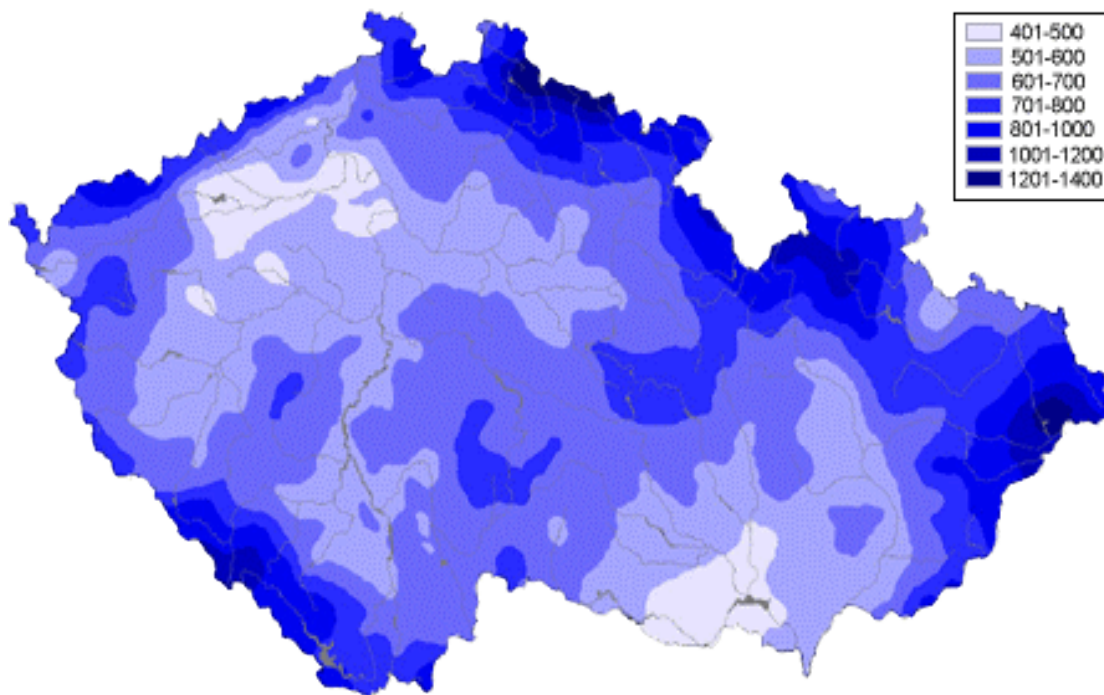
## 2.1.4 Pěstování

### Nároky na stanoviště

Angrešt a rybíz jsou co do stanoviště velmi přizpůsobiví, o čemž svědčí jejich pěstování v nížinách i podhorských a horských oblastech. Obecně patří oba dva mezi bobulové ovoce rozšířené v krajích, kde se nedaří vinné révě [4, 5].

V přírodě působí vlivy: ekologické (teplota, světlo, voda, vzduch), edafické (půda, živiny), topografické (zeměpisná poloha, nadmořská výška), biotické a antropogenní [5]. Tyto faktory důležité pro efektivní pěstování angreštu, a proto v následujících odstavcích budou shrnuty první tři skupiny.

Angrešt není náročný na půdní a klimatické podmínky, ačkoli má poněkud vyšší požadavky v porovnání s rybízem. Daří se mu především v humózních a vlhčích zeminách bohatých na živiny, s neutrálním až slabě kyselým pH. V sušších a písčitých nebo jílovitých půdách nelze velkoplodé odrůdy – pokud mají mít správnou výtěžnost – vůbec pěstovat; maloplodé odrůdy jsou v tomto skromnější [4]. Stejně tak jako sucho angrešt nesnáší ani naprosté zamokření. Optimální je 650 mm srážek za rok [1]. Jak dokumentuje mapa průměrných srážkových úhrnů, tyto podmínky jsou splněny v podhorských oblastech [5].



Obr. 2. Mapka intenzity srážkových úhrnů [12].

I na teplotu je angrešt náročnější než rybíz, pokud má být sklizeň kvalitní. Vyžaduje stanoviště s průměrnou roční teplotou 7 – 9 °C.

Především pozdě zrající odrůdy potřebují slunné polohy, ačkoli nadměrné působení přímého slunečního záření může na druhou stranu způsobit tzv. úžeh plodů. Rozumný kompromis lze dosáhnout tak, že je angrešt na stráních vysazován do sadů jako subkultura [1, 4].

### ***Choroby a škůdci***

#### *Choroby*

**Americké padlí angreštové (*Sphaerotheca mors-uvae*)** – houba, která způsobila vyhubení většinové populace angreštu u drobných pěstitelů. Vyskytuje se na angreštu v Asii, Evropě, Severní Americe i na Novém Zélandu [13]. Do Evropy bylo padlí zavlečeno z Ameriky počátkem 20. století. V posledních letech se začíná projevovat i na rybízu. Napadení poznáme podle změny fyziologie listu – jsou menší, zasychají a ohýbají se na spodní stranu, později usychají úplně a opadávají. Nákaza přechází po odkvětu na plody, které se vůbec nevyvíjejí, případně jim často praská slupka, schnou a jsou kyselé. Choroba je o to nebezpečnější, že je schopna přezimovat na mladých výhonech nebo větvičkách ve formě mycelia viditelného jako hnědý nebo šedivý povlak. Škodlivost padlí lze do značné míry zredukovat. Například tím, že keře sázíme řídkěji a každoročně je prořezáváme. Napadené větévky i listy je potřeba spálit a půdu kolem keře překopat [5, 9, 14]. Jako účinná alternativa, netoxická pro životní prostředí, se ukázal postřik minerálním olejem [13]. V současné době lze stejně tak dobře zakoupit prostředky vyrobené z potravinářských surovin, které neškodí lidem ani včelám [9].



Obr. 3. Větévka s plody a detail listů napadených americkým padlím angreštvým [9].

**Evropské padlí angreštvé (*Micosphaera grossulariae*)** napadá angrešt a rybíz v podobě bílých povlaků, které na rozdíl od amerického padlí angreštvého následně nešednou [5]. V posledních letech je méně časté a vyskytuje se především u rostlin značně zanedbaných výživou a závlahou, případně ve stinných lokalitách [14, 15]. Ochrana je podobná jako u amerického padlí angreštvého [5].

**Botrytida angreštu (*Botritis cinerea*)** je rozšířená houbová choroba. Vyskytuje se zejména u stromkových tvarů rybízu a angreštu s kmínkem meruzalky zlaté (*Ribes aureum*). Nejprve napadá listy a následně se šíří i na plody, všechny napadené části rostliny odumřou a opadají. Tím, že opadnou listy, nemůže probíhat asimilace živin přiváděných dobře rozvinutým kořenovým systémem meruzalky. Dochází proto k vodnatelnosti. Pokud je invaze botrytidy masivnější, odumírá celá rostlina [5, 9].



Obr. 4. Detail bobule napadené botrytidou [9].

**Rez vejmutovková (*Cronartium ribiola*)** – tato houbová choroba je dvoubytná – to znamená, že potřebuje mezihostitele. Těmi jsou borovice s pěti jehlicemi ve svazečku. Vyskytuje se proto často na zahrádkách v blízkosti lesa. Neřadíme ji mezi závažné choroby, ale přesto dokáže pěstitelům způsobit řadu starostí, protože vyvolává předčasný opad listů, celkové odumírání výhonů a zhoršuje jakost plodů. Nejvhodnější ochranou je v tomto případě ta nejjednodušší, totiž shrabování a pálení listů spolu se správným hnojením [5, 9, 14]. Jak již bylo zmíněno výše, může být rovněž účinně likvidována postřikem minerálního oleje [13].



Obr. 5. Vlevo borovice vejmutovková napadená rzí vejmutovkovou, vpravo detail větve a listu černého rybízu stížených toutéž chorobou [14].

### *Škůdci*

**Pilatka angreštová (*Pteronidea grossulariae*)** – listožravý škůdce, jehož larvy jsou po vylíhnutí schopny způsobit totální holožír [5, 9].

**Píd'alka angreštová (*Abraxas grossulariae*)** – rovněž listožravý škůdce, v dospělosti motýl. Jeho housenky na jaře požírají pupeny a později i listy angreštu [5, 9].

**Mšice srstková (*Aphidula grossulariae*)** – jejich přítomnost poznáme podle kadeřavých listů a zkroucených řapíků v důsledku sání rostlinné šťávy, a také podle výskytu mravenců, jenž se živí sladkými výměšky mšic [5, 9].

Některé organismy svou přítomností chrání angrešt před nechtěnými škůdci. Jsou to například: slunéčkovití (živí se převážně mšicemi, pro udržení jejich populace je dobré zachovat místa, kde zimují – staré stromy, meze a nekultivované okrajové pozemky), škvoři, dravé ploštice a draví roztoči, pavouci, dravci a sovy (loví jak hlodavce, tak větší hmyz jako sarančata a kobylky), hmyzožraví pěvci (žerou housenky), ještěrky, slepýši a nakonec hmyzožravci, mezi něž patří krtek, ježek a rejsek [9].

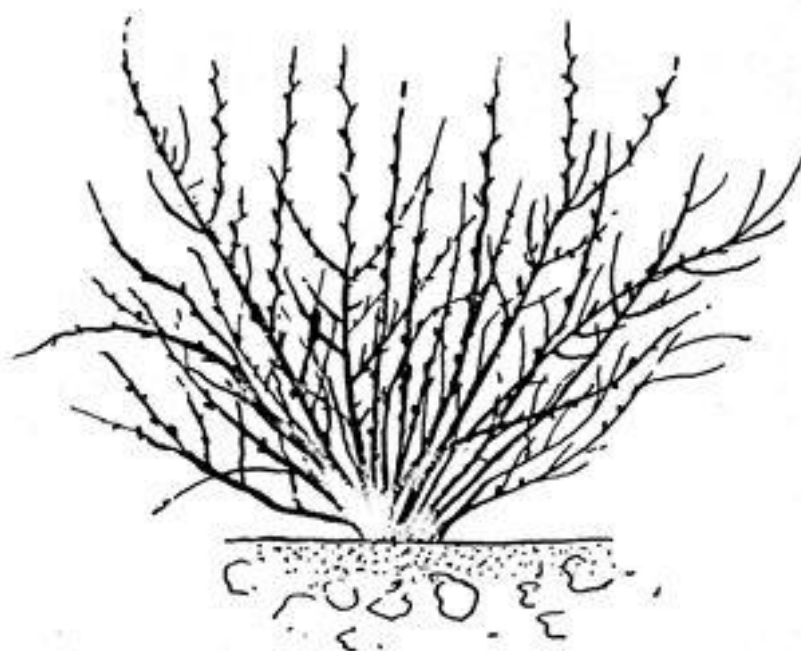
## 2.1.4 Botanická charakteristika

### *Vegetativní orgány angreštu*

**Kořen.** Hlavní kořenový val se nachází v hloubce 5 – 30 cm, jednotlivé kořeny mohou prorůst i do hloubky jednoho metru. Stejně vzdálenosti mohou dosahovat rovněž ve směru od obvodu keře nebo kmenu stromku. Jsou rozloženy hlouběji než u rybízu, a proto se může půda kolem angreštu obdělávat s větší intenzitou [4, 9].

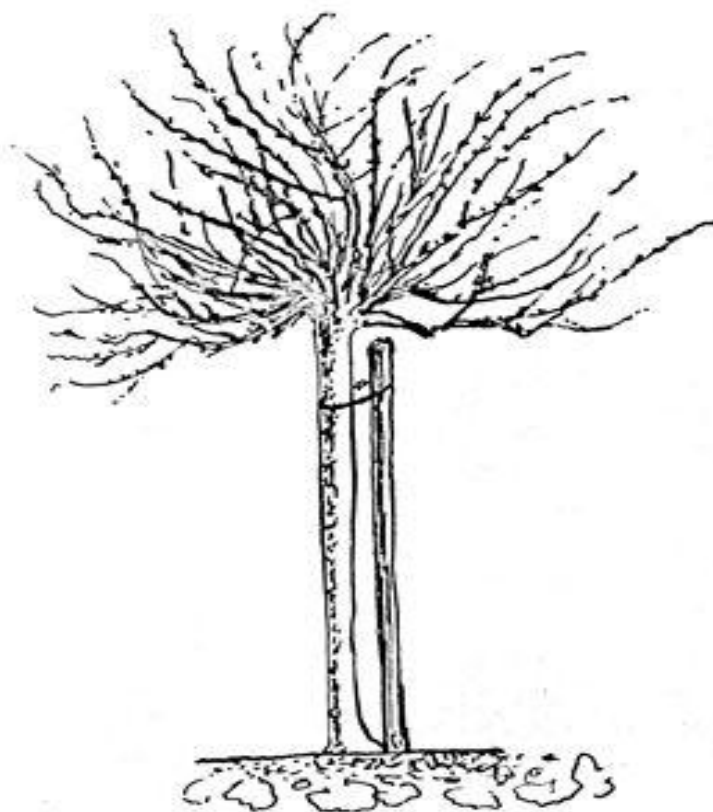
**Stonek.** Stonek je zdřevnatělý a v současnosti lze angrešt zakoupit ve dvou základních pěstitelských tvarech. Angrešt je ve své původní formě, kterou popisuje ve svém Herbáři i doktor Mathioli, keř. V tomto tvaru jej můžeme najít v zahradách se starší výsadbou. V současnosti se ale téměř výhradně pěstuje ve tvaru stromku, což má značné výhody především při sklizni [6, 9].

*Keře* jsou vysoké zhruba 1 m, s větvemi vzpřímenými, obloukovými až poléhavými. Základní počet větví by neměl přesahovat 10 – 12, i když některé odrůdy (např. Industrie) mohou tvořit i více než 25 hlavních výhonů [5, 9]. Životnost angreštového keře se pohybuje okolo 20 let [10].



Obr. 6. Keř angreštu [5].

*Stromky* mají kmínek vysoký nejčastěji 0,9 – 1,1 m (tzv. vysokokmen), který může být buď vlastní, nebo tvořený meruzalkou zlatou [3, 6]. Stromky na meruzalce zlaté se dožívají 8 – 12 let [14].



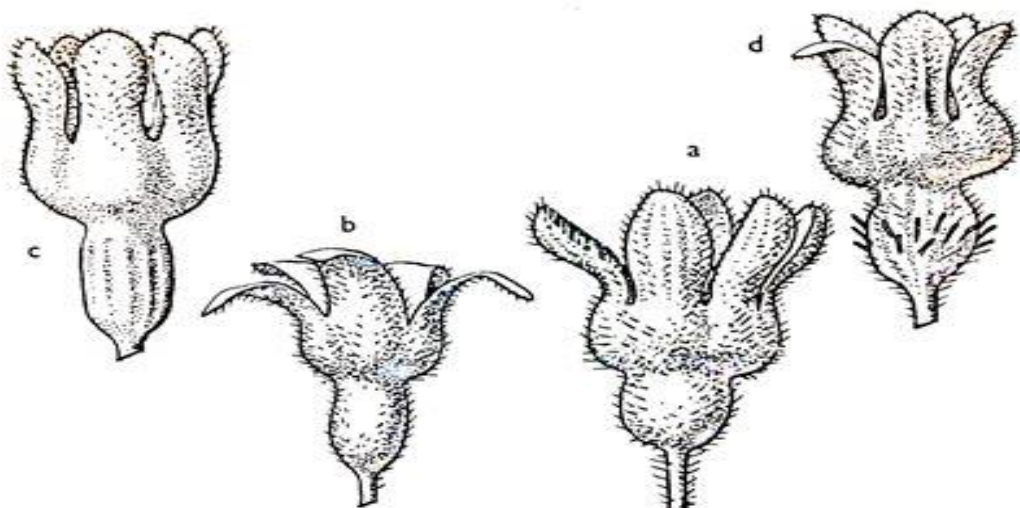
Obr. 7. Stromek angreštu [5].

Oba dva tvary začínají rašit brzy na jaře a růst se prodlužuje až do pozdního podzimu, nejintenzivnější je v období května a června. Jednoleté výhony jsou dlouhé a tenčí, nejplodnější je dvou až tříleté dřevo [6, 9].

**Listy.** Jsou poměrně spolehlivým znakem odrůd. Pro jednotlivé odrůdy jsou charakteristické velikost a barva listu, tvar a počet laloků, záhyby laloků a jejich vzdálenost, okraj čepele, řapík, jeho postavení a délka, barva a ochmýření [4]. Barva přechází od světle zelené přes středně zelenou až ke tmavě zelené. Listy jsou velké, střední nebo malé, tři až pět laločnaté. [1]. Velikost listu není v rámci jedné odrůdy stálá, ale závisí na podmínkách, kde je přímo úměrná jejich kvalitě. Mladé keře mívají větší listy než ty staré [4]. Plocha listu je důležitým faktorem určujícím intenzitu zachycení světla a následně i transpirace, fotosyntézy a výtěžnosti rostliny. Její stanovení je proto užitečnou informací při pěstování angreštu a dalších drobnoplodých odrůd ovoce [7].

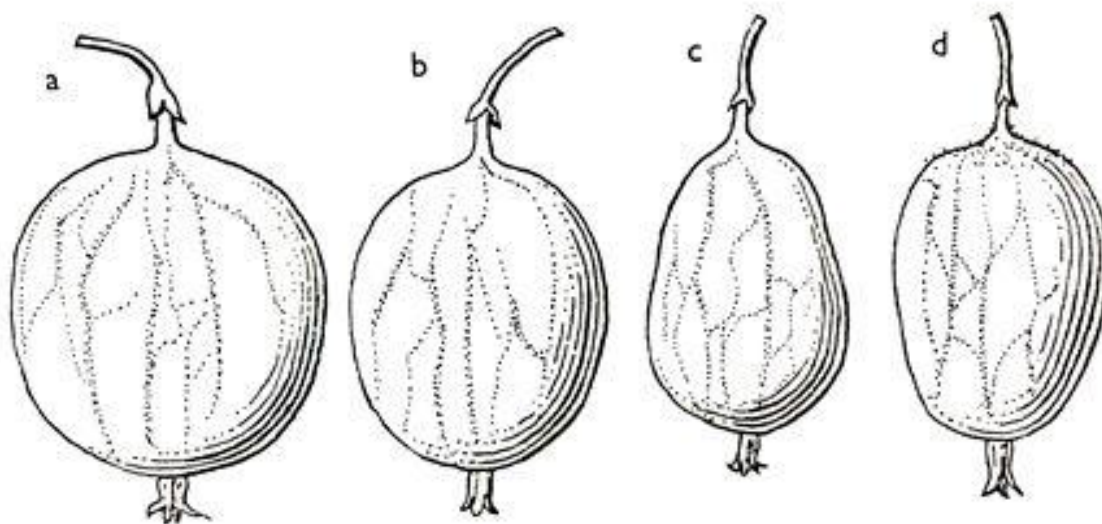
### ***Generativní orgány***

**Květ.** Květy vyrůstají z pupenů v paždích listů ve svazečcích (velmi chudých hroznech) buď jednotlivě, nebo po dvou či třech. Velikost a počet květů závisí na odrůdě, výživě a také řezu rostliny. Mají nazelenalou až načervenalou barvu a kvetou zpravidla 8 – 12 dní. Jsou oboupohlavní. U angreštu byla pozorována samosprašnost (většinou) i cizosprašnost (jedna odrůda). Pokud se na opylení podílejí včely, které jsou ke květům lákány jednak bohatostí nektaru a jednak jejich raným výkvětem, zvyšuje se počet a kvalita plodů. Po opylení kalich zasychá a zůstává na bobuli. [1, 4, 5, 9, 10]



Obr. 8. Tvar česulí: a) kulatý, b) oválný, c) válcovitý, d) vejčitý. [4]

**Plod.** Znaky plodu bývají často považovány za jediné směrodatné pro určení odrůd. Koneckonců, byly vyšlechtěny právě pro rozdílnost svých bobulí. Jejich velikost se pohybuje od značně malých plodů až k velkoplodým odrůdám, jež dosahují 4,5 cm délky, 4 cm šířky a váhy až 20 g. Pro konzervářský průmysl jsou nejvhodnější střední plody konstantní velikosti. Tvar může být kulatý, oválný, vejčitý, opakvejčitý, hruškovitý či nepravidelný. Mírně se liší dokonce i v rámci jedné rostliny, ale charakteristický tvar je zastoupen u velké většiny z nich [4, 9].



Obr. 9. Tvar plodů: a) kulatý, b) oválný, c) vejčitý, d) opakvejčitý [4].

Odborníci rozlišují u plodů rovněž délku a tvar stopky a stopečky stejně tak jako uspořádání, velikost a barvu průduchů a žilek (cévních svazků) [4]. Nejzákladnější dělení se zaměřuje na barvu slupky a dobu zrání plodů.

Slupka se dokonale vybarvuje v období dozrávání. Podle jejího zbarvení v období konzumní zralosti se rozlišují odrůdy:

- **Běloplodé** – barva bělavě zelená až žlutobílá. Z odrůd zkoumaných v této diplomové práci sem patří Invicta, dále například Bílý nádherný, Roman, Viking.
- **Žlutoplodé** – plody žlutozelené, žluté, jantarově žluté. Zástupci jsou kupříkladu Britania, Citrónový obří, Triumphant (zřejmě vyšlechtěn J. Šámalem v 19. století) nebo Zlatý fik (u jeho zrodu stál pravděpodobně J. E. Proche).
- **Zelenoplodé** – barva intenzivně tmavě zelená nebo světle zelená, u jiných žlutavě zelená. Proto lze tuto skupinu v literatuře najít také pod pojmem „zelenožlutoplodé“. Zde uveďme příkladem Kompaktu, Produktu, Skvost, Terno a Místral, všechny pocházející z České republiky.
- **Červenoplodé** – do této skupiny spadá většina zkoumaných odrůd: Alan, Hinnonmaki Rot, Captivator, Karmen, Rolonda i Spine Free. Z dalších například Astrid, Final, Šolcova naděje a další. Barva slupky je lehce karmínová, světle červená až tmavě červená s přechodem do fialova. [4, 9, 10]

Další významnou charakteristikou je čas potřebný k dosažení konzumní zralosti. Angrešt dozrává v období od poloviny června do poloviny srpna. Podle umístění sklizně v této periodě rozdělujeme odrůdy – nezávisle na barvě slupky a dužiny – na:

- **Rané** – plody zrají od rašení do sklizně průměrně 89 dní
- **Středně rané** – od rašení do sklizně uběhne průměrně 97 dní
- **Pozdní** – od vyrašení trvá průměrně 105 – 110 dní, než nastane sklizeň [4, 10].

Nutno podotknout, že čas sklizně se může mírně měnit v závislosti na klimatických a půdních podmínkách a vlivem rozdílného prostředí (stín stromů).

V předcházejících dvou odstavcích byl zmíněn pojem konzumní zralost. Ten souvisí s faktem, že u angreštu rozlišujeme celkem 3 stupně zralosti:

- **Zelená zralost** – plody jsou sytě zelené, sklízají se začátkem června pro svůj veliký obsah pektinu.
- **Kompotová = konzervárenská zralost** – plody jsou světle zelené, ještě nevybarvené a při stisku mezi prsty pruží. V tomto stádiu při technologickém zpracování nepraskají a nerozvaňují se.
- **Konzumní zralost** – její čas se kryje se sklizňovou zralostí, plody jsou sladké, aromatické a typicky zbarvené podle odrůdy. [1, 4]

## 2.1.6 Pomologie vybraných odrůd

Odrůdy zkoumané v této diplomové práci jsou natolik nové, že většina zatím nebyla popsána v odborné literatuře. Následující informace jsou proto čerpány přímo z praxe, především z internetových stránek ovocné školky ve Strážnicích.

### *Captivator*

Pochází z Kanady, kde vznikl r. 1935 zkřížením odrůd „Spine Free“ a „Clark“. Díky tomu jsou jeho bobule v období plné zralosti žlutozelené s červenavým nádechem. Dosahují menší až střední velikosti a mají oválný, případně hruškovitý tvar. Velice dobře se sklízí, protože větve Captivatoru jsou prakticky bez trnů [5]. Právě absence trnů a rezistence k americkému padlí mu vynesla pozornost při srovnávacím výzkumu sedmi odrůd angreštu [8].

### *Hinnonmaki Rot*

Tento pomalu rostoucí keř dosahuje výšky 1 až 1,5 metru a poskytuje průměrné výnosy. Plody jsou malé až střední, v době zralosti tmavě červené barvy, sladké a zároveň nakyslé chuti, aromatické. Hinnonmaki Rot je typická dezertní odrůda, vhodná zároveň jako přídavek do mléčných výrobků nebo ke zmrazení. Sklizeň probíhá od poloviny června do první poloviny července. Rostlina vykazuje značnou odolnost vůči mrazům i americkému padlí. [16, 17]



Obr. 10. Hinnonmaki Rot [16].

### *Invicta*

Invicta má svou domovinu v Anglii, kde byla registrována r. 2001. Na rozdíl od většiny odrůd, které jsme měli pro tuto diplomovou práci k dispozici, je Invicta žlutoplodou odrůdou. Bobule dosahují zpravidla střední velikosti, jsou žlutozelené s výrazným žilkováním a mají sladce navinulou až sladkou chuť. Hodí se pro přímou konzumaci i ke konzervování. Invicta dozrává v první polovině července a plodí pravidelně ve velkých výnosech. Je nejen vysoce

odolná vůči americkému padlí, ale navíc i pěstitelsky nenáročná a vhodná do většiny oblastí v České republice [10, 17]. Při výzkumu porovnávajícím 7 odrůd angreštu měla Invicta jeden z největších keřů a byla doporučena pro pěstování právě kvůli své nenáročnosti na prostředí a odolnosti vůči chorobám. Její plody měly poměrně málo titrovatelných kyselin a rozpustných pevných látek [8].



Obr. 11. Invicta [17].

### ***Karmen***

Odrůda Karmen plodí střední až velké elipsovité bobule červené barvy s lehce ochmýřenou a silnou slupkou. Sklizeň probíhá na konci léta. Karmen dobře odolává padlí angreštovému. [17]



Obr. 12. Detail plodu odrůdy Karmen [17].

### ***Rolonda***

Tato německá odrůda registrovaná roku 2001 je další zástupce ze skupiny červenoplodých angreštů. Barva může přecházet až do tmavě fialové. Bobule angreštu chutnají navinule sladce a jsou výrazně aromatické, bez chloupků, elipsovitého tvaru a střední velikosti. Rolonda je pozdně plodící, avšak ve velkých výnosech a pravidelně. Můžeme ji využít pro přímý konzum i ke konzervování. Odolává americkému padlí, nevyžaduje zvláštní chemické ošetření a hodí se do všech oblastí. [10, 17]



Obr. 13. Rolonda [17].

### ***Spine Free***

Beztrnná odrůda červeného angreštu, která zraje v polovině července. Plody jsou střední až velké, s jasně červenou slupkou a tuhou, sladkou dužinou. Spine Free je hojně a pravidelně plodící odrůda, vysoce odolná k americkému padlí angreštovému. [17]



Obr. 14. Spine free [17].

## 2.1.7 Účinné látky

Ačkoli se angrešt netěší všeobecné oblibě, drobní pěstitelé si ho cení pro snadné pěstování, chuťové vlastnosti a nutriční parametry. Jak dokumentuje níže uvedená tabulka, angrešt se vyznačuje relativně nízkou energetickou hodnotou (díky nízkému obsahu glycidů, tuků a dusíkatých látek, které reprezentují obsah bílkovin) a vysokým obsahem vitamínů a esenciálních minerálií. Z vitamínů jmenujme hlavně vitamín C, který se v plodech vyskytuje z 95 % v redukované formě kyseliny L-askorbové [9, 18].

Tab. 2. Kompletní výživové složení angreštu a rybízu, porovnané s hodnotami průměrného obsahu v ovoci a doporučené denní dávky (DDD). Vytvořeno podle [18].

Složka	Angrešt	Rybíz červený	Rybíz bílý	Rybíz černý	Průměrně v ovoci	Doporučená denní dávka (DDD)
Energie [kJ.100g <sup>-1</sup> ]	207,0	157,0	112,0	194,0	170,2	11 000 kJ. d <sup>-1</sup>
Základní složky [g.100g <sup>-1</sup> ], DDD [g.den <sup>-1</sup> ]						
Voda	85,6	84,6	83,3	80,6	86,8	2 500
Sušina	14,4	15,4	16,7	19,4	13,2	-
Bílkoviny	0,9	1,1	1,3	1,3	0,6	80
Lipidy	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	75
Sacharidy	10,6	13,8	5,6	16,4	11,8	400
Popeloviny	0,4	0,6	0,6	0,7	0,6	-
Vláknina	2,8	4,7	4,0	5,6	0,8	30
Minerální látky [mg.100g <sup>-1</sup> ], DDD [mg.d <sup>-1</sup> ]						
Ca	34,0	28,0	22,0	41,9	18,9	800
Fe	0,5	1,2	0,9	0,8	0,9	14
Na	22,0	0,2	0,2	0,3	0,7	2 500
Mg	13,0	9,9	13,0	16,8	11,8	300
P	36,0	32,0	28,0	58,6	19,8	800
Cl	7,0	5,2	11,0	10,0	15,6	1 500
K	190,0	200,0	250,0	290,0	176,0	2 000
Zn	0,3	0,3	0,2	0,3	0,1	15
I	0,0	0,0	n	0,0	0,0	0,2
Mn	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
Se	n	n	n	n	0,0	0,1
S	11,6	25,0	24,0	35,6	cca 10,0	500
Cu	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	1,5

*Pokračování Tab. 2 Kompletní výživové složení angreštu a rybízu, porovnané s hodnotami průměrného obsahu v ovoci a doporučené denní dávky (DDD). Vytvořeno podle [18].*

Složka	Angrešt	Rybíz červený	Rybíz bílý	Rybíz černý	Průměrně v ovoci	Doporučená denní dávka (DDD)
Vitamíny [mg.100g <sup>-1</sup> ], u DDD [mg.d <sup>-1</sup> ]						
A (jako β-karoten)	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	0,8
B <sub>1</sub> – thiamin	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	1,4
B <sub>2</sub> – riboflavin	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	2,0
B <sub>6</sub> – pyridoxin	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	2,2
PP – niacin	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	18
B <sub>9</sub> – folacin (kyselina listová)	0,1	n	n	n	0,0	0,2
B <sub>12</sub> – kobalamin	0,0	0,0	0,0	0,0	-	0,0
B15 – kyselina pangamová	n	n	n	n	-	2,0
- inosit	n	n	n	n	-	1 000,0
- cholin	n	n	n	n	-	600,0
C – kyselina askorbová	24,4	33,0	40,0	160,0	16,5	60
D - kalciferol	0,0	0,0	0,0	0,0	-	0,0
E - tokoferol	0,4	0,1	0,1	1,0	0,3	10,0
H – biotin	0,5	0,0	0,0	0,0	-	0,2
K – fylochinon	n	n	n	n	-	0,7
P - bioflavonoidy	n	n	n	100,0	30,1	cca 200,0
S – methylmethionin	n	n	n	n	-	?
Koeficient jedlého podílu	0,91	0,97	0,96	0,98	-	-

V Tab. 2 je červeně vyznačen sloupec hodnot angreštu a sloupec průměrných hodnot v ovoci. Tyto dva údaje byly porovnávány, aby bylo definováno, v čem je angrešt výjimečný. Pozorný čtenář si již jistě všiml, že angrešt má v porovnání s průměrem více vlákniny, co do minerálních látek vyniká v obsahu Ca, Na, Mg, P a K (což koreluje i s [19]) a z vitamínů je významněji zastoupen thiamin, riboflavin, folamin, kyselina askorbová a biotin [18]. Bobule angreštu, především nedozrálé, obsahují poměrně hodně pektinu, který je vhodný k výrobě (přípravě) umělých cév, jako želírovací činidlo apod. [19]. Významný je rovněž podíl organických kyselin, který činí 1 – 4 % [9], v běžných druzích ovoce je to 0,3 – 1,5 % [18]. Organické kyseliny mají baktericidní účinky [9].

Tyto látky budou blíže charakterizovány s posloupností od chemicky nejsložitějších přes jednoduché molekuly až po organicky vázané prvky.

## ***Vláknina***

Pojem „potravinová vláknina“ je často chápán nejednotně. Tato „vláknina“ totiž vůbec nemusí mít vláknitou povahu. Je to výživový termín, který nemá žádné dočinění s její fyzikální nebo chemickou podstatou, ačkoli obě charakteristiky jsou při určování zahrnuty. Potravinová vláknina je definována na základě metody stanovení a těchto metod je hned několik. Všeobecně je přijímána definice, že se jedná o soubor neškrobových polysacharidů, které nejsou degradovatelné trávicími enzymy v horní části trávicího traktu. Na základě toho se sem počítá celulóza, lignin hemicelulózy, pektinové látky, inulin, gummy a slizy. Všechny sloučeniny jsou buď ve vodě nerozpustné, koloidně rozpustné, nebo vodorozpustné ( $\beta$ -glukany) [18, 20].

Potravinová vláknina má doslova očistný efekt na trávicí ústrojí. Pomáhá proti zubnímu kazu, odvádí ze zažívacího traktu škodlivé karcinogeny a upravuje střevní peristaltiku, čímž předchází zácpě a snižuje riziko intoxikace škodlivinami. Doporučený denní příjem vlákniny se pohybuje mezi 25 a 50 g [18, 20].

## ***Pektin***

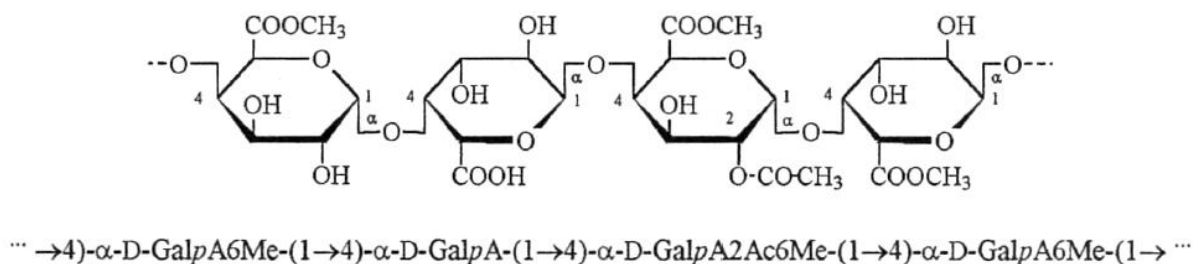
Pektinové látky jsou charakteristické pro ovoce a zeleninu, v obilninách se nevyskytují [18]. Angrešt patří mezi pektinově nejbohatší druhy ovoce [21], jak dokumentuje i níže uvedená Tab. 3.

*Tab. 3. Obsah pektinů v čerstvém ovoci a zelenině [22].*

Zdroj	Pektin [%]
Jablka	0,5 – 1,6
Hrušky	0,4 – 1,3
Broskve	0,1 – 0,9
Jahody	0,6 – 0,7
<b>Angrešt</b>	<b>0,3 – 1,4</b>
Rybíz červený a černý	0,1 – 1,8
Hroznové víno	0,1 – 0,9
Pomeranče	0,6
Slupky pomerančů	3,5 – 5,5
Banány	0,7 – 1,2
Ananas	0,04 – 1,13
Mrkev	0,2 – 0,5
Rajčata	0,2 – 0,6
Fazole	0,5
Cibule	0,5
Brambory	0,4

Pektiny jsou celou skupinou polysacharidů o proměnném složení. Jejich základní struktura je tvořena lineárním řetězcem polygalaturonové kyseliny. Ta se skládá z 25 – 100 monomerů D-galakturonové kyseliny spojené  $\alpha$ -(1→4) glykosidickými vazbami. Kyselina

polygalakturonová je do různého stupně (nejčastěji kolem 70 %) esterifikována methanolem, volné karboxylové kyseliny poté mohou být neutralizovány různými kationty [22].



Obr. 15. Základní struktura pektinů [22].

Komerčně se pektiny získávají nejčastěji z kůry citrusů nebo jablečných slupek. Pektin z kůry citrónů a limetek je nejsnazší na izolaci a zároveň jeden z nejkvalitnějších. Komerční pektiny jsou právě lineární esterované polygalakturonany, jak bylo zmíněno výše [20]. Lineární struktura polygalakturonantu je po určité době přerušena cukrem ramnózou. Kromě ní obsahují pektiny další cukry v postranních řetězcích. V největším množství jsou zastoupeny L-arabinoza, D-galaktosa, méně často D-xylosa, D-glukosa, D-mannosa, L-fukosa, a D-galakturonová kyselina [22].

V dozrávajících pletivech angreštu se vyskytují ve vodě nerozpustné pektinové látky, které se v průběhu zrání mění účinkem pektolytických enzymů pektináz na koloidně rozpustné pektiny, což se projevuje měknutím nebo - v případě jablek – moučnatěním plodů. Pektiny se pak dalším zráním zcela rozkládají. To je také důvod, proč se pro výrobu pektinů používá angrešt v zeleném stupni zralosti [9, 20, 21].

Další cestou, jak lze převést nerozpustné pektinové látky na pektin, je varem se zředěnými kyselinami. Vzniklý pektin následně s kyselinami a cukrem tvoří rosol. Tento jev ještě před zjištěním jeho příčiny snad všichni pozorovali při vaření marmelád a povidel. Ne vždy jsou ale pektinové látky prospěšné. Jejich nežádoucí vliv se může projevit například při výrobě ovocných moštů [9, 21].

### **Organické kyseliny**

Kyseliny dodávají příjemnou chuť a podporují trávení. Intenzita chuťového zážitku je u různých kyselin různá. V čistém roztoku i ve směsi s tříslovinami je nejvýraznější kyselina vinná, ve směsi s cukrem poté kyselina citrónová. Z konzervářského hlediska jsou organické kyseliny důležité pro svůj bakteriostatický účinek. Jsou zároveň potřebné k tomu, aby se z ovoce při vaření při reakci s kyselinami a cukrem z pektinu vytvořil rosol. K většině druhů ovoce se musí kyseliny (nejčastěji citrónová) přidávat, angrešt však obsahuje dostatečné množství kyselin pro vznik rosolu i bez přídavku [9, 21].

### **Vitamíny**

Látky, jejichž název vznikl z domněnky, že jde o aminy nezbytné pro život, skutečně chrání lidský organismus v mnoha směrech, ačkoli o aminy se ve většině případů nejedná. [18]

**Thiamin (vitamín B<sub>1</sub>)** zabraňuje poruchám nervového systému a jako kofaktor enzymů se účastní metabolismu sacharidů, aminokyselin a lipidů. Je poměrně nestálý, snadno se oxiduje a jeho příjem je ve středoevropské stravě všeobecně na hranici nedostatku. Avitaminóza se v krajnosti projevuje jako nechvalně známá nemoc beri-beri, doposud hrozící v krajinách, kde majoritní část jídelníčku tvoří loupaná rýže. Nejbohatšími zdroji jsou játra, vepřové maso, kvasnice a obilné klíčky. Zelenina se podílí na celkové denní dávce thiaminu zhruba z 20 %, ovoce přibližně z 5 % [18, 23]. Procentuální podíl však může být daný složením průměrné diety v tuzemských podmínkách.

**Riboflavin (vitamín B<sub>2</sub>)** podporuje v lidském těle růst a oxidační procesy. Je součástí kofaktorů FMN a FAD. Jeho nedostatek vede k poruchám růstu nervových buněk, kůže a zapříčiňuje vypadávání vlasů. Během vaření může dojít ke ztrátě více než poloviny obsahu riboflavinu v potravinách (mléko a potraviny hlavně živočišného, ale i rostlinného původu), navíc mu škodí světlo. Avitaminóza je naštěstí vzácná. [18, 21, 23]

**Kyselina listová = kyselina folová = folacin (vitamín B<sub>9</sub>)** ovlivňuje krevní tvorbu a metabolismus bílkovin, podílí se na biosyntéze purinových látek. Při nedostatku se dostavuje anemie a poruchy růstu a trávení. Lékaři doporučují zvýšit příjem tohoto vitamínu při plánovaném těhotenství a mladým ženám, potenciálním matkám, protože nedostatek folacinu způsobuje u plodu mentální retardaci, rozštěp páteře či dokonce smrt [18, 23].

**Kyselina askorbová (vitamín C)** – toto označení není zcela pravdivé, protože obsah vitamínu C je ve skutečnosti daný přítomností kyseliny askorbové a zároveň dehydroaskorbové, které dohromady tvoří oxidačně-redukční systém. Při nedostatku se dostavují kurděje neboli skorbut, projevující se únavou, sníženou obranyschopností, srdečními potížemi a krvácením z dásní. Správné zásobení organismu naopak zvyšuje činnost mozku a urychluje nervově svalové reakce. [18]. Více informací je o vitamínu C uvedeno ve třetí kapitole teoretické části.

**Biotin (vitamín H)** je nepostradatelný pro normální funkci pokožky a podílí se na metabolismu mastných kyselin. V ovoci a zelenině je přítomen v nevýrazném množství, angrešt je tedy jeho vysokým obsahem zcela výjimečný. Avitaminóza se projevuje zápallem pokožky, avšak většinou nehrozí, protože vitamín H je dostatečně produkován střevní mikroflórou člověka [18].

### ***Minerální látky***

Často se uvádějí souborným parametrem jako popeloviny, stanovené spálením a vyžiháním ve formě oxidů a solí. Tento údaj je však zkreslen absencí těkavých minerálních látek. Pojem „minerální látky“ neznamena totéž, co minerály. Aby mohl být prvek biologicky vstřebán, musí být organicky vázaný. Proto jeho účinnost nezávisí jen na celkovém množství, ale i na formě a oxidačním stupni, v jakých je prvek přítomen. Někdy se jejich účinky spolu násobí, jindy jsou antagonisté. Vápník a fosfor jsou stavební prvky, draslík zas důležitý koenzym. Důležitý je rovněž poměr jednotlivých prvků. Například vápníku a fosforu (1:1) nebo vápníku a hořčíku (1:1 až 1:2) [18]. Jak je vidět v Tab. 2, angrešt výborně splňuje první parametr, s drobnou odchylkou i druhý.

**Ca** je spolu s kyselinou fosforečnou a hořčíkem hlavní stavební složkou kostních a zubních tkání. Jeho dostatek proto snižuje riziko osteoporózy. Dále ovlivňuje pružnost buněčných stěn a srážení krve. Snižuje krevní tlak a působí preventivně proti ischemické chorobě srdeční. Společně s draslíkem biochemicky ovlivňuje nervovou a svalovou činnost.

**Na** je typický extracelulární kation. V důsledku toho se podílí na udržení osmotického tlaku a vodní aktivity ve tkáních. V naší stravě je většinou v přebytku.

**Mg** má doplňkovou funkci při stavbě kostí a tvorbě enzymů. Jeho nedostatek způsobuje podrážděnost, vypadávání vlasů a poruchy kůže. Rovněž dochází ke zpomalení růstu.

**P** je v těle přítomen jako součást kostí a enzymů, ve formě ATP zabezpečuje přenos energie. V běžné stravě se vyskytuje v dostatku.

**K** je hlavní intracelulární kation. Podílí se na nervové a svalové činnosti (napěťově vrátkované kanály v cytoplazmatické membráně). Jako antagonistu sodíku pomáhá v těle udržovat stálý osmotický tlak a působí diuretický. Jeho důležitým zdrojem jsou právě ovoce a zelenina. [18]

Na základě všech výše uvedených informací o obsahu minerálií v angreštu bychom tedy mohli vyslovit závěr, že angrešt je díky organicky vázanému vápníku, hořčíku a fosforu vhodný pro podporu správné funkce kosterní soustavy. Lze ho tedy doporučit všem sportovcům, těhotným ženám a ženám po menopauze.

### 2.1.8 Potravinářské využití

Angrešt se kvůli své poměrně malé trvanlivosti nejčastěji zpracovává do formy kompotů pro výrobu studených polévek, výhodný je však i vývoz v čerstvém stavu [19]. To souvisí především s faktem, že v posledních letech převládá zájem o čerstvé, nezpracované ovoce a zeleninu, které jsou nutričně vhodnější a v současnosti díky dovozu dostupné po celý rok. Tento trend se projevil podstatným snížením výroby konzervářských výrobků a poklesem významu klasické konzervářské technologie [24]. Zároveň jsou ale kompoty, marmelády, povidla a další konzervářské výrobky stále součástí sortimentu tuzemských obchodů a supermarketů.

Prvním krokem konzervářského zpracování je **praní suroviny** zprostředkované pračkami různých konstrukcí v závislosti na mechanické odolnosti zpracovávaného ovoce nebo zeleniny. Z praček se dostává surovina na běžící pásy, kde jsou **jakostním tříděním** vyřazeny nevhodné plody. Z takto vyříděných jsou **odstraněny nepoživatelné části**, například jádřince nebo košťály, u angreštu jsou v tomto kroku obroušeny chloupky a je odstopkován. Následuje **blanširování**, tedy technologický zákrok, při němž je surovina vystavena účinkům tepla. Jeho cílem je inaktivace enzymů (především oxidoreduktáz), které by způsobovaly nežádoucí změny a snížení kvality produktu [24]. Tyto plody již mohou být použity pro výrobu kompotů. Další operací je **rozváření plodů**, kdy dochází k měknutí tkáně, která je pak vhodná pro **pasírování** (výroba povidel, klevel, marmelád), případně **drcení suroviny** u výrobků s vyšším obsahem vody (limonády, džusy, nektary). Tato drť se dále lisuje, je **čirena** a jsou z ní odseparovány kaly sedimentací, filtrací či ultrafiltrací [24, 25].

Angrešt v **zelené zralosti** se k přímému potravinářskému zpracování zpravidla nepoužívá. V kompotu by byl příliš tvrdý a scvrkával by se, šťávám a moštům by dodával kyselou chuť bez dostatečného vybarvení a vůně. Navíc by kvůli vysokému obsahu pektinu způsoboval slizovitou konzistenci.

Dozrávající angrešt ve **2. stupni zralosti** obsahuje stále ještě hodně pektinových látek, a proto se tyto plody přidávají při výrobě marmelád, džemů a rosolů k ovoci, které má pektinových látek málo. Samostatně lze angrešt využít k přípravě kompotů a taktéž džemů (plody s jemnou slupkou), marmelád, povidel a rosolů. Pokud si v domácnosti z dozrávajícího angreštu připravíme protlak do zásoby, je možné ho používat namísto kupovaných želírovacích cukrů. U rosolů je výhoda, že je možné takto zpracovat i plody podřadné jakosti.

Úplně zralý angrešt, tedy ten v **konzumním stádiu zralosti**, se používá na výrobu povidel, moštů a vín. Dále na export v čerstvém stavu. [1, 5, 9, 19, 21]

Zmíněné lidově zažitě pojmy jsou definovány podle Vyhlášky 157/2003 Sb. takto:

**Kompot** – ovoce s nálevem nebo bez nálevu, v neprodyšně uzavřeném obalu, konzervované sterilací.

**Džem** – potravina vyrobená ze směsi přírodních sladidel, vody, pulpy a dřeně, nebo přírodních sladidel, vody a dřeně, jednoho nebo více druhů ovoce, přivedené do vhodné rosolovité konzistence.

**Marmeláda** – potravina vyrobená ze směsi přírodních sladidel, vody a jedné nebo více surovin získaných z ovocné dřeně, přivedené do vhodné rosolovité konzistence, přičemž za suroviny získané z ovocných plodů se považují pulpy, dřeně, šťávy, vhodné extrakty a kůry.

**Povidla** – potravina vyrobená z jednoho nebo více druhů ovoce (jablek, hrušek, švestek) s přídavkem přírodních sladidel nebo bez přídavku, přivedená do polotuhé až tuhé konzistence s jemnými až hrubšími částicemi dužiny ovoce.

**Klevela** – potravina vyrobená z jednoho nebo více druhů ovoce, s přídavkem přírodních sladidel nebo bez přídavku, přivedená do kašovitě, roztékavé konzistence se zřetelnými hrubými částmi dužiny ovoce.

**Ovocné protlaky** – potraviny řídké až kašovitě konzistence, vyrobené z jedné části ovoce (bez kůry, slupky, jader, pecek, jádřinců) propasírováním nebo obdobným procesem s případným přidáním přírodních sladidel, konzervované sníženým obsahem vody, sterilací nebo přidáním konzervačního prostředku anebo kombinací uvedených způsobů.

**Upravené chlazené čerstvé ovoce** – potravina z čerstvého celého nebo děleného ovoce s případným přidáním ovoce sterilovaného nebo zeleniny čerstvé nebo sterilované, uzavřená ve spotřebitelském obalu, určená k přímému použití. Skladuje, přepravuje a nabízí se při teplotách od 0°C do 5°C. [24, 26]

Bližší informace o těchto skupinách potravin jsou uvedeny v Příloze č. 1.

Hotové výrobky musí být na obale vhodně **označeny** podle legislativy. Kromě všeobecných povinností vyplývajících z příslušného zákona a zvláštního předpisu musí být uveden i druh ovoce u potravin jednodruhových, obsah alkoholu v objemových procentech u ovoce v lihu, název skupiny, podskupiny a písmeno; případné označení „EXTRA“ a

„VÝBĚROVÝ“ musí odpovídat specifickým požadavkům. Upravené čerstvé chlazené ovoce musí být označeno datem expirace a teplotou skladování [26].

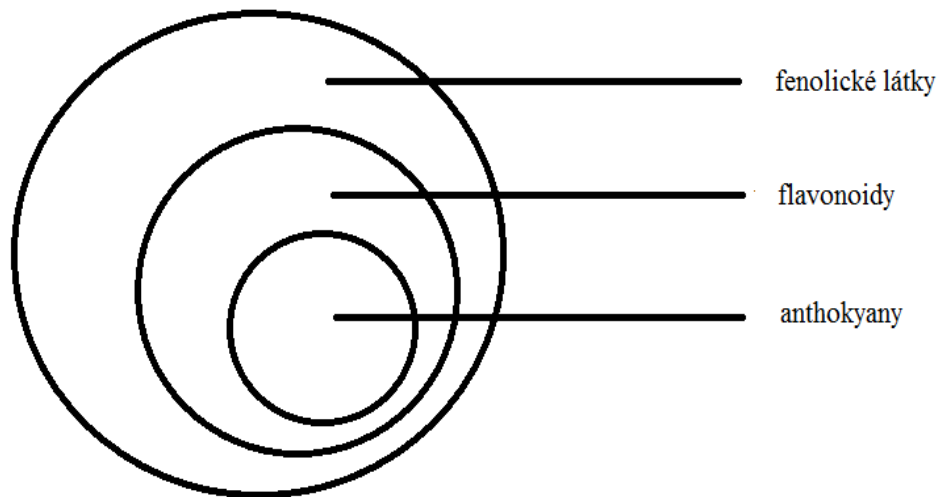
V Příloze č. 2 jsou uvedeny některé recepty na domácí zpracování plodů angreštu. Snad se – vzhledem k bohatému nutričnímu charakteru angreštu – alespoň některé z nich stanou inspirací a obohacením pro případné čtenáře této diplomové práce.

## 2.2 Anthokyany

### 2.2.1 Obecná charakteristika a klasifikace

Název anthokyanů pochází z řeckých slov anthos neboli květina a kyanos, čili modrý [20]. Anthokyany jsou ve vodě rozpustné rostlinné pigmenty zodpovědné za celou paletu barev květů a plodů, od modré přes fialovou a nachovou k červené, oranžové až po žlutou [20, 27]. V některé literatuře je můžeme najít pod synonymem anthokyaniny [18, 28].

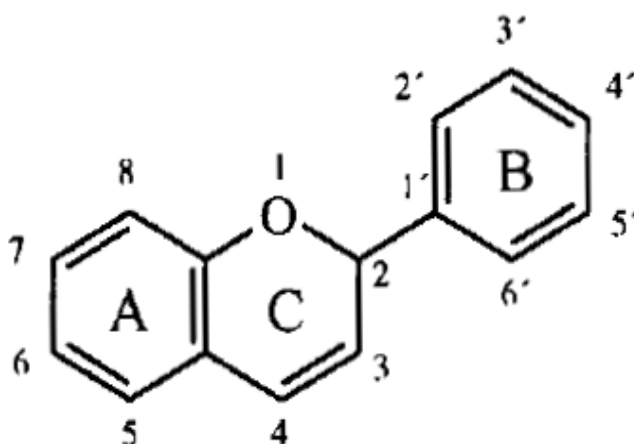
Z hlediska systému založeného na chemické struktuře sloučenin patří anthokyany do skupiny flavonoidů a ty zase do fenolických látek [20]. Zařazení anthokyanů si lze dobře představit na základě Obr. 16.



Obr. 16. Zařazení anthokyanů. Vytvořeno podle [20].

**Fenolické sloučeniny**, které se vyskytují především v rostlinách a potravinách rostlinného původu, v sobě zahrnují velké množství organických látek, jež jsou klasifikovány podle počtu a vaznosti fenolových kruhů. Patří sem například hydroxyskořicové kyseliny, chalkony, stilbeny, lignany a konečně flavonoidy, které se svými vlastnostmi velmi odlišují od ostatních rostlinných barviv. [20, 28, 29]

**Flavonoidy**, podskupina fenolických sloučenin, jsou samy o sobě velice rozsáhlou a mnohotvarou skupinou. V současnosti je jich známo více než 4 000 a stále se nacházejí nové. Ve své molekule obsahují dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkatým alifatickým řetězcem, lze pro ně proto použít schematického zápisu  $C_6 - C_3 - C_6$ , zohledňující počet uhlíků. Důvodem, proč tuto strukturu na níže uvedeném obrázku nepozorujeme, je fakt, že  $C_3$  řetězec kondenzuje se sousedním jádrem za vzniku heterocyklického (konkrétně pyranového) kruhu. [28, 29].



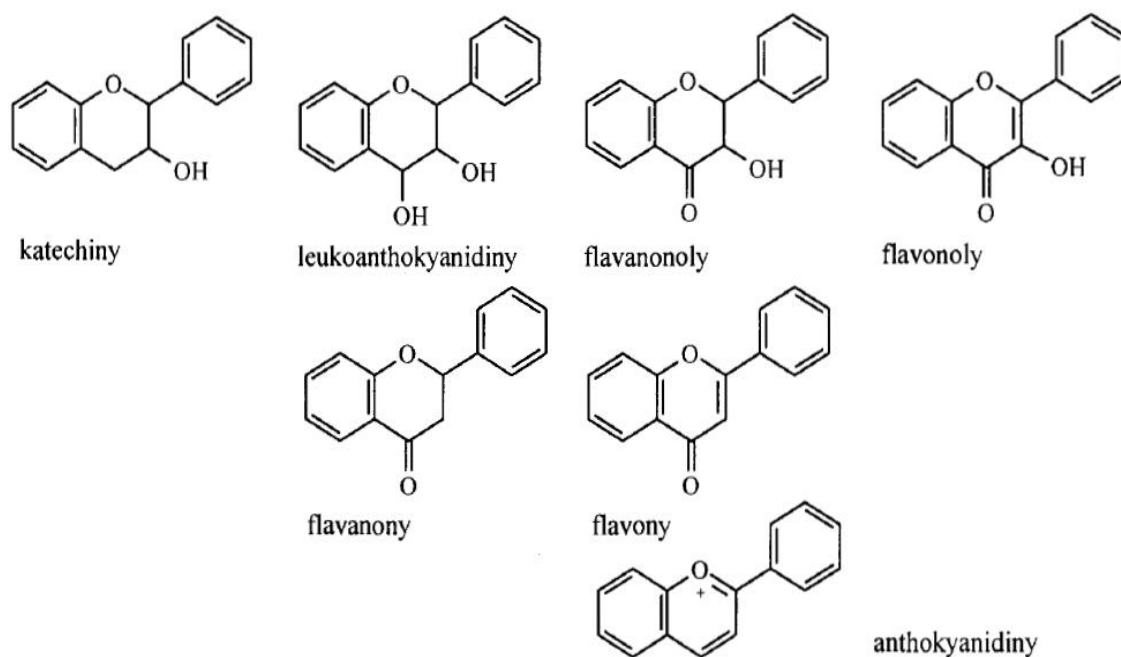
Obr. 17. Vzorec flavanu [28].

Některé z flavonoidů jsou důležité jako přírodní rostlinná barviva, jiné jakožto organolepticky účinné látky (trpké, hořké) a další pro svoje biologické účinky [28]. Všechny flavonoidy jsou ale velice zajímavými z pohledu výživy a fyziologie díky antioxidační aktivitě, závislé jednak na pH a jednak na počtu a pozici hydroxylových skupin. Při potravinářském zpracování mohou flavonoidy způsobit odbarvení výrobků komplexací kovových iontů a zvýšit turbiditu vytvořením komplexů s proteiny [29].

Flavonoidy lze – v závislosti na stupni oxidace  $C_3$  řetězce – rozdělit do následujících základních skupin:

- Katechiny (flavan-3-oly)
- Leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly)
- Flavanony
- Flavanonoly
- Flavony
- Flavonoly
- Anthokyanidiny

Níže uvedený Obr. 18 dokumentuje jejich základní strukturu. V řádcích zleva doprava roste oxidační stupeň sloučenin a zároveň také intenzita barvy. Sloučeniny uvedené ve sloupcích pod sebou mají stejný stupeň oxidace [29].



Obr. 18. Obecná struktura flavonoidních látek [29].

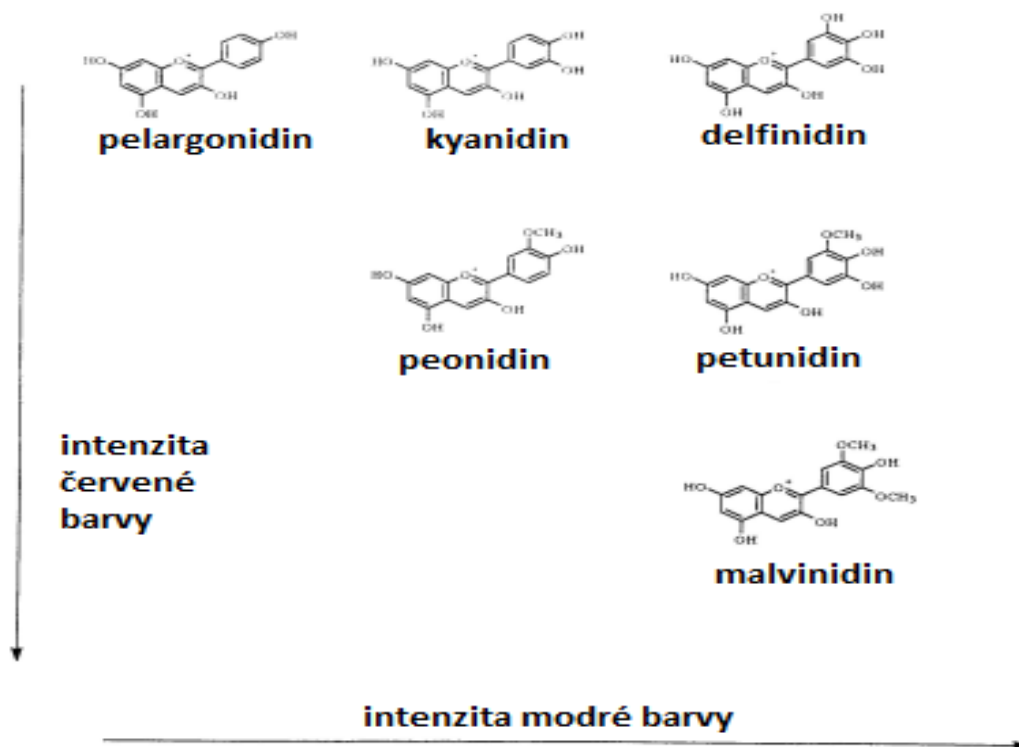
### 2.2.2 Struktura

Anthokyanany jsou tvořeny anthokyanidinem a na něm navázanými sacharidy.

Anthokyanidiny jsou flavyliové (2-benzopyriliové) soli. Do dnešního dne bylo identifikováno asi 70 anthokyanidinů, ale jen 6 z nich má význam v rostlinných potravinách. Vyznačují se hydroxyskupinou v poloze C<sub>3</sub>. Svůj název dostaly podle latinského jména květiny uvedené v závorce [28, 29]. V sestupném pořadí podle četnosti výskytu to jsou:

- Kyanidin (chrpa, *Cyanus sp.*)
- Pelargonidin (pelargónie, *Pelargium sp.*)
- Peonidin (pivoňky, *Paeonia sp.*)
- Delfinidin (stračky, *Delphinium sp.*)
- Petunidin (petúnie, *Petunia sp.*)
- Malvidin, dříve nazývaný oenidin (sléz, *Malva sp.*) [29]

Jak známo, barva sloučeniny souvisí s její chemickou strukturou. Bylo pozorováno, že čím více je molekula anthokyanidinu substituována hydroxy a methoxy skupinami, tím tmavší má odstín. Dochází k bathochromnímu posunu (k větší vlnové délce). Z obrázku je jasně patrné, že methoxy skupiny mají na posun větší vliv než pouhé hydroxy skupiny. Díky přítomnosti methylu jsou totiž silnějšími donory elektronů [20].



Obr. 19. Závislost mezi strukturou a barvou anthokyanidinů [20].

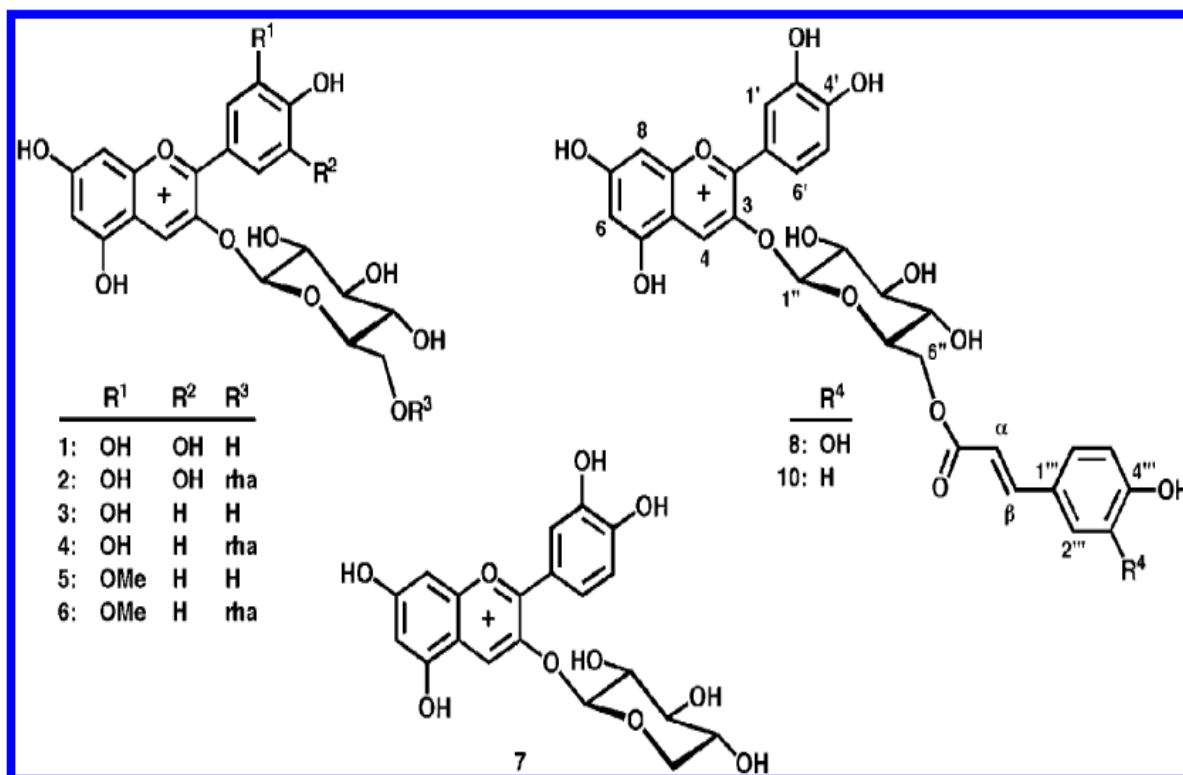
**Cukerný zbytek.** Jako součást molekuly anthokyanů bylo identifikováno pět sacharidů. V sestupném pořadí podle četnosti to jsou:

- D-glukóza
- L-rhamnóza
- D-galaktóza
- D-xylóza
- L-arabinóza

Nejčastějšími disacharidy jsou rutinosa, sambubiosa, soforosa, laminaribiosa a genciobiosa.

Druh cukru má poměrně malý vliv na reaktivitu. Daleko důležitější je poloha, v jaké je vázán. Cukr bývá vždy navázaný v pozici 3 na prostředním heterocyklickém kruhu. Pokud je přítomna hydroxy skupina i v pozici 5, může se nacházet i zde. Tyto cukerné zbytky mohou být snadno odštěpeny kyselé katalyzovanou reakcí. Ve výjimečných případech je sacharid navázan i v pozici C-7, C-3', C-5' a C-4'.

Cukry jsou často acylovány hydroxyskořicovými kyselinami (p-kumarovou, kávovou, ferulovou a sinapovou) a dvěma hydroxybenzoovými kyselinami (p-hydroxybenzoová a gallová), méně často malonovou a octovou [27, 28, 29].



Obr. 20. Anthokyaniny přítomné v plodech rodu *Ribes* (anthokyanidiny: 1, 2 – delfinin, 3,4 – kyanidin, 5,6 – peonidin, 7 – 10 – kyanidin; 10 – příklad acylovaného anthokyanu) [27].

### 2.2.3 Fyzikálně chemické vlastnosti

#### Barva

Jsou to právě anthokyaniny, které propůjčují ovoci, zelenině a květinám jejich atraktivní barvu, i když nutno podotknout, že se na její konečné podobě podílí i další přítomné pigmenty, například karotenoidy nebo chlorofyly [28].

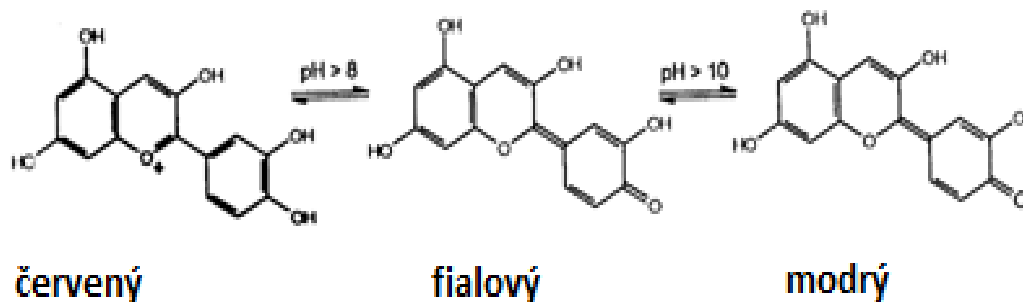
Co se týká samotných anthokyaninů, jejich zbarvení a stabilitu ovlivňuje struktura, přítomnost některých enzymů, pH prostředí, teplota, přítomnost kyslíku a působení záření. Některé vlivy budou popsány v rámci reaktivity, protože se spolu vzájemně prolínají.

#### A. Struktura anthokyanidinu a cukerných substituentů.

Jejich vliv je popsán výše.

#### B. pH.

Vliv pH na barvu je zajímavý a logický. Anthokyaniny obsahují ve své struktuře řadu hydroxylových skupin vázaných na benzenovém jádře. Díky konjugaci elektronů a donornímu efektu OH skupin jsou jejich vodíky kyselé. V závislosti na změně pH proto dochází k tvorbě solí a dalších sloučenin, doprovázených změnou konjugovaného systému a tedy i absorbancí v jiné oblasti viditelného spektra a jinou barvou. Vliv pH na konjugaci a posléze barevnost kyanidinu je patrná na Obr. 21. [30].



Obr. 21. Vliv pH na konjugaci a barvu kyanidinu [39].

### C. Teplota.

Většina anthokyanů má paradoxně poněkud vyšší stabilitu při vyšších teplotách, které jsou používány například při zpracování ovoce a zeleniny. Jejich stabilita a rychlost degradace závisí i na ostatních faktorech vnějšího prostředí (pH, struktura, přítomnost kyslíku, jiné reaktivní komponenty). [28]

### Reaktivita

#### A. Enzymy.

S anthokyanem reagují dvě hlavní enzymové skupiny, někdy dohromady nazývané jako anthokyanasy. V obou případech je výsledkem ztráta barvy. Inaktivace se provádí blanširováním nebo vystavením  $\text{SO}_2$  o velice nízké koncentraci.

- Glykosidasy – hydrolyzují glykosidické vazby anthokyanů, takže vznikne anthokyanidin a příslušný sacharid.
- Polyfenoloxidasasy – uplatňují se v reakcích enzymového hnědnutí. [20, 28]

#### B. Kyslík a peroxidy.

Jde o radikálovou reakci, radikál může pocházet buď přímo z kyslíku, nebo jiných, labilních sloučenin, které působením kyslíku radikály vytvářejí. Takovou látkou je mimo jiné kyselina askorbová, oxidací kyslíkem se z ní uvolňuje peroxid vodíku. Důsledkem je zhnědnutí, případně odbarvení anthokyanů. [20, 28]

#### C. Záření.

Rozklad flavonoidů způsobený zářením je známý pod pojmem „světlem urychlená degradace anthokyanů“ a probíhá jako fotooxidace. Je zapříčiněn působením viditelného, ultrafialového i ionizujícího záření a byl pozorován u několika druhů džusů a červeného vína [20, 28].

#### D. Kopigmentace.

Anthokyanem jsou známy svou tendencí kondenzovat se sebou samými a také s ostatními organickými sloučeninami (proteiny, taniny, ostatní flavonoidy a polysacharidy). Právě druhý případ je nazýván jako kopigmentace. [20]

#### 2.2.4 Fyziologie a výživa

Anthokyaniny jsou přítomné v mnoha rostlinných druzích, lokalizované ve vakuolách, kde jsou stabilizovány díky iontovým interakcím s organickými kyselinami (malonová, jablečná, citronová) [28]. Hodnota doporučené denní dávky se pohybuje v rozmezí 180 – 251 mg.den<sup>-1</sup>, což je daleko více než příjem ostatních flavonoidů (23 mg.den<sup>-1</sup>) [31]. Pro zabezpečení dostatečného příjmu je vhodné konzumovat rostliny z těchto čeledí:

- Révovité (hrozny révy vinné)
- Růžovité (třešně, švestky, maliny, jahody, ostružiny, jablka, hrušky a další)
- Lilkovité (lilek, brambory s červenou slupkou)
- Lomikamenovité (červený a černý rybíz, červené odrůdy angreštu)
- Vřesovcovité (borůvka, brusinka)
- Brukvovité (červené zelí, ředkvičky, červené odrůdy dalších brukvovitých zelenin) [28]

Aby bylo možné položit seriózní základ tvrzením o blahodárných účincích anthokyanů na lidské zdraví, je nejprve potřeba ověřit jejich absorpci a biologickou dostupnost daných sloučenin jejich přítomností v moči. Především proto, že osud mnoha flavonoidů po pozření je neznámý [32]. Nedávné studie prokázaly vstřebávání delphinidinrutinosidu a kyanidinrutinosidu v nezměněném stavu jak lidmi, tak i krysami [33]. Z dalších výzkumů vyplývá, že anthokyaniny jsou lépe vstřebávány v přítomnosti cukrů (sacharózy) [31]. To znamená, že ovoce a zelenina jsou ideálními matricemi. I přes to se ale zdá, že celková biologická dostupnost v potravinách obsažených anthokyanů je poměrně nízká [34].

U extraktů bohatých na anthokyaniny je prokázána řada biologických účinků [33]. Anthokyaniny například:

- Jsou silné antioxidanty, fungují jako zhášedce volných radikálů [33, 35, 36]
- Chrání před oxidací lipidy, zejména LDL (low-density lipoprotein), a liposomy [33, 35]
- Působí protizánětlivě [37]
- Působí vasoprotektivně a udržují normální permeabilitu žil [37]
- Projevuje se u nich protirakovinná aktivita [37]
- Zpomalují pokles neurologické aktivity způsobené stářím [37, 38]
- Hrají roli při prevenci srdečních onemocnění [39]

Souhrnně by se dalo říci, že všechny účinky anthokyanů souvisejí s jejich antioxidační aktivitou, protože buněčný oxidační stres je důležitým faktorem při procesu stárnutí a vzniku mnoha onemocnění – arteriosklerózy, ischemie, Alzheimerovy nemoci, rakoviny a dalších [37, 38].

#### 2.2.5 Využití v potravinářství

Anthokyaniny jsou všeobecně považovány za bezpečné, nebyla u nich při opakovaných testech prokázána ani mutagenita, ani toxicita (případně jsou velice nízké). Velice nízká je i

toxicita jejich komplexů s některými kovy, například hliníkem a cínem, které se používají na výrobu plechovek. Anthokyany jsou proto povoleným a hojně využívaným aditivem do potravin, ve většině zemí není ani stanoven limit jejich maximální koncentrace. Již dlouhou dobu se používají na dobarvování potravin, typickým příkladem jsou nealkoholické nápoje, marmelády, džemy a červená vína. [28, 40, 41]

Anthokyany jsou nestabilní pod pH nižší než 2 a u džemů a marmelád je nevyšší možné přípustné pH rovno čtyřem (viz Příloha č. 1). Jedním z možných způsobů stabilizace anthokyanů je přidávek hydrokoloidů. Jako nejvýhodnější se ukázaly pektin a alginát [40]. Anthokyany lze stabilizovat i koncentrací cukru vyšší než 20 % (v kompotech a podobných výrobcích) v důsledku snížení aktivity vody [28].

Nejčastěji se anthokyany pro potravinářské účely získávají z červené vinné révy, bezinek, aronie červenoplodé, případně červeného zelí, květů ibišku a dalších [28].

V současnosti jejich význam roste díky zájmu spotřebitelů o přírodní látky [28].

### 2.2.6 Anthokyany a angrešt

Bobuloviny nejsou jednotné co do složení i obsahu anthokyanů. V porovnání s rybízem, bezem a aronií má červený angrešt nejméně anthokyanů [38], žlutoplodé odrůdy pak nemají téměř žádné [34]. Kvalitativní charakteristika je uvedena níže.

Tab. 4. Hlavní anthokyany přítomné v angreštu a rybízu. Vytvořeno podle [28].

Druh ovoce	Anthokyany	
	Kyanidin	Delfinidin
Angrešt červený	3-glukosid, 3-rutinosid	-
Rybíz černý	3-glukosid, 3-diglukosid, 3-rutinosid	3-glukosid, 3-diglukosid, 3-rutinosid
Rybíz červený	3-glukosid, 3-rutinosid, 3-sambubiosid, 3-soforosid, 3-glukosylrutinosid, 3-xylosylrutinosid	-

Tyto údaje korelují se závěry Nilssona a Trajkovskiho, že evropský angrešt se liší od toho amerického tím, že nemá žádné anthokyany s aglykonem delfinidem. Při nedávném výzkumu byl v bobulích červeného angreštu identifikován nejen kyanidin 3-glukosid a 3-rutinosid, ale i 3-galakosid, 3-xylosid, 3-kafeoylglukosid a 3-p-kumaroylglukosid. Dále peonidin 3-glukosid a 3-rutinosid [27].

### 2.2.7 Metody stanovení anthokyanů

Analýza anthokyanů je komplikovaná kvůli jejich strukturálním změnám a reakcím, do nichž vstupují, jak bylo diskutováno výše. Navíc je obtížné je oddělit od ostatních flavonoidů kvůli podobné struktuře i reaktivitě. Standardy anthokyanů, nezbytné pro přesnou kvantifikaci, nejsou pro vědecké účely obvykle komerčně dostupné, protože je velice těžké získat anthokyany z rostlinných tkání v potřebné kvalitě [42].

#### *pH diferenciální metoda*

Principem je reverzibilní změna barvy anthokyanů v závislosti na změně pH. Na jednu stranu to omezuje jejich použití jakožto potravinářských barviv, na druhou poskytuje snadnou metodu měření celkové koncentrace pigmentu. Jinak barevné anthokyany absorbují v jiné části spektra.

Vzorky jsou naředěny do vodných pufrů o pH 1 (kdy převládá barevná oxoniová forma) a pH 4,5 (anthokyan v bezbarvé hemiketalové formě). Oba dva roztoky jsou proměřovány při různých vlnových délkách, standardně jsou voleny dvě vlnové délky: 420 nebo 510 a 700 nm.

Rozdíl v absorbanci těchto dvou roztoků je dán množstvím monomerních anthokyanových pigmentů. Polymerní anthokyan a pigmenty neenzymatického hnědnutí svou barvu v závislosti na pH nemění, a jsou proto vyloučeny z počátečních výpočtů. Pro výpočet celkového obsahu anthokyanů je potřeba znát molární hmotnost a molární extinční koeficient. Extinční koeficienty by měly být stanoveny ve vodných roztocích, nikoli ethanolických či methanolických, kvůli solvatačnímu efektu [43, 44, 45].

#### *Chromatografické metody*

##### **Historické metody**

Dříve, před rozvojem HPLC a kapilární elektroforézy, byly ke stanovení anthokyanů využívány papírová chromatografie (PC) a chromatografie na tenké vrstvě (TLC).

V závislosti na vzorku a mobilní fázi bylo možné **papírovou chromatografií** provést poměrně kvalitní separaci anthokyanových barviv ze směsného vzorku. Touto technikou však naneštěstí nelze rozdělit větší množství anthokyanových barviv, a proto se z tohoto i jiných důvodů stala časem nevhodnou. Podobně je tomu i s **TLC**, také neumožňuje separaci větších objemů. Potřebuje však kratší čas (2 – 5 hodin, papírová chromatografie až 36 hodin) a poskytuje vyšší rozdělení. I přes výše uvedené zápory bývají papírová a tenkovrstvá chromatografie v současné době používány pro rutinní analýzu v mnoha laboratořích, hlavně pro svou nízkou cenu [42, 46].

##### **HPLC**

Vysokočinná kapalinová chromatografie je nejpoužívanější technika pro kvalitativní i kvantitativní analýzu anthokyanů. Protože každá laboratoř zabývající se stanovením anthokyanů časem rozvinula metodu podle specifických nároků (povaha rostlinné matrice, přístrojové vybavení), není možné popsat stanovení do detailu. Existují však určité všeobecné trendy.

Vzhledem k povaze molekuly anthokyanů je volena reverzně fázová chromatografie, tedy s nepolární stacionární a polární mobilní fází. Systém s normálními fázemi používající

nemodifikovaný silikagel, není natolik efektivní. Nejčastěji jsou využívány kolony s C18 stacionární fází, méně často s polystyrénem, oktadecylsilanem (ODS) nebo navázanými fenylovými zbytky. První zmiňované poskytují nejlepší rozdělení anthokyanů od ostatních rostlinných fenolů. Vnitřní průměr kolon s C18 stacionární fází se pohybuje od 2,1 do 5 mm a velikost částic samotných od 3 do 5  $\mu\text{m}$ . Užší typy kolon mají vnitřní průměr od 1,1 do 2,1 mm a obsahují velice malé částice o rozměrech 1,7  $\mu\text{m}$ .

Mobilní fáze je vodná s přidavkem organického modifikátoru (acetonu nebo methanolu) a organické kyseliny (octové, trifluoroctové, případně mravenčí) pro snížení pH pod hodnotu 2. Nízké pH stabilizuje anthokyanu a omezuje chvostování píků. Pod pH 3,2 totiž anthokyanu existují ve 2 formách: červeném flavyliovém kationtu a modré quinodiální formě. Nad pH 2, kdy jsou v poměru zhruba 7:3, se proto setkáváme s nízkým rozlišením a sníženým limitem detekce. Při pH 1,5 je již 96 % anthokyanů ve formě flavyliového iontu.

V systému s reverzními fázemi jsou retenční časy tím kratší, čím více je molekula anthokyanu polární (čím více má hydroxylových a methoxylových funkčních skupin). Eluce tedy probíhá v pořadí delfinidin > kyanidin > petunidin > pelarginidin > peonidin > malvinidin. Diglykosidy eluují před monoglykosidy, následují aglykony a nakonec acylované deriváty. Díky nestabilitě anthokyanů je potřeba sledovat nejen pH, ale i teplotu. Výhodou je HPLC přístroj s termostatem.

Detekce anthokyanů nejčastěji probíhá detektorem diodového pole, hmotnostním spektrometrem nebo nukleární magnetickou rezonancí [42, 47, 48].

#### *HPLC/DAD*

Nejčastěji využívané spojení, setkáme se s ním na průmyslových i vědeckých pracovištích. Detektor diodového pole (DAD) umožňuje on-line sběr a sledování spekter a poskytuje informace o povaze aglykonu, glykosilaci a dokonce i acylaci. Detektory s možností jedné vlnové délky bývají obvykle nastaveny v rozmezí 520 – 546 nm v důsledku jedinečného absorpčního maxima anthokyanů. Anthokyanidin s jednou hydroxylovou skupinou na B kruhu (pelargonidin) má absorpční maximum při 520 nm, anthokyanidiny se dvěma OH skupinami (kyanidin a peonidin) při 535 a ty se třemi (delfinidin, petunidin, malvidin) při 544 nm. Ostatní rostlinné fenoly při těchto vlnových délkách neabsorbují, takže detekce anthokyanů je snazší a výsledné chromatogramy daleko jednodušší. Další absorpční pík anthokyanů je mezi 270 a 280 nm.

Cukry navázané na anthokyaniny nemají na spektra velký vliv, mění ale retenční časy. Technologie diodového pole umožňuje akumulaci UV/Vis spekter do databází usnadňujících identifikaci píku [31, 42, 47, 48].

#### *HPLC/MS*

Instrumentace HPLC/MS našla své místo v kvalitativní i kvantitativní analýze anthokyanů především v posledních patnácti letech, první práce ve spojení s anthokyanu začaly být uveřejňovány zhruba před patnácti lety. Skýtá v sobě separační schopnosti kapalínové chromatografie kombinované se selektivitou a citlivostí hmotnostního spektrometru. To dohromady umožňuje přesnou identifikaci jednotlivých sloučenin ze směsné matrice.

Aplikaci tato technika našla jednak v analýze potravin, jednak ve vědeckých laboratořích. Zde může být analýza anthokyanů prováděna za různými účely, ať už určení struktury, studium změn během stárnutí vína či polymerizačních reakcí flavonoidů a další.

Fyzické spojení těchto dvou analytických technik s sebou nese určité problémy, jako množství eluentu, jeho složení a typ analytu. Řešením jsou menší kolony s nižším průtokem.

V případě anthokyanů jsou nejpoužívanějšími ionizačními technikami ionizace nárazem urychlených atomů (FAB), MALDI, chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI) a elektrosprej (ESI), který je zdaleka nejpoužívanější. Jakožto měkká ionizační technika vytváří molekulové ionty (neštěpí sloučeninu až na atomy) a usnadňuje tak určení molekulové hmotnosti, stejně tak jako FAB nebo MALDI. Pro ionizaci pomocí elektrospreje je nejvýhodnější, aby pH mobilní fáze bylo mezi 1 a 2, kdy se většina anthokyanů nachází ve formě flavyliového kationtu.

Pro stanovení anthokyanů jsou využitelné různé druhy detektorů. Analyzátor doby letu částice (TOF), kvadrupól, iontová past a iontová cyklotronová rezonance. TOF je nejčastěji používán ve spojení s MALDI, elektrosprej spolu s iontovou pastí.

Často využívané je při stanovení anthokyanů i tandemové uspořádání hmotnostního spektrometru (MS/MS), díky kterému lze určit strukturu jednotlivých složek vzorku. [42, 47, 48, 49]

### *HPLC/NMR*

Zatímco kapalinová chromatografie ve spojení s UV detekcí nebo s hmotností spektrometrií je účinným nástrojem při analýze anthokyanů, použití NMR pomůže objasnit strukturu neznámých sloučenin ve zkoumaných rostlinných vzorcích. Nedostatkem NMR je poměrně malá citlivost, ale v současné době opět nabývá na popularitě díky pokroku v oblasti potlačení interference rozpouštědla, supravodivých magnetů, gradientu pulzního pole a technologii sond.

V drtivé většině případů jsou výsledkem analýzy  $^1\text{H-NMR}$  spektra, v některých případech lze za určitých podmínek použít i  $^{13}\text{C-NMR}$  spektra.

Ve vědeckém výzkumu bylo zdokumentováno použití nukleární magnetické resonance na stanovení struktury acylovaných anthokyanů kukuřice a mnoha dalších rostlin, anthokyanů glykosylovaných cukrem rhamnózou v borůvkách a minoritních sloučenin vyskytujících se ve víně. Dále byly tímto způsobem identifikovány acylované anthokyaniny v okvětních lístcích růže a v jahodách. Všeobecně se NMR často používá pro určení pozice, v níž je anthokyanidin glykosylován [42, 49].

### **CCC a HSCCC**

Neboli protiproudá chromatografie (CCC) a vysokorychlostní protiproudá chromatografie (HSCCC).

HPLC využívá pevnou a kapalnou fázi, u protiproudé chromatografie jsou obě dvě fáze kapalné. V podstatě jde o zautomatizovanou verzi kapalinové extrakce, kdy dochází

k opakovanému rozdělení analytu mezi dvě nemísitelné kapaliny. Separace probíhá za mírných podmínek a umožňuje tím nedestruktivní izolaci anthokyanů o vysoké čistotě z mnoha typů matrice. A nejen jich, CCC je univerzálním nástrojem pro analýzu dalších produktů přírodního původu. Protože je stacionární fáze kapalná, nikoli pevná, minimalizují se ztráty vzorku vzniklé adsorpcí a je zajištěno jeho až 100% opětovné získání.

Novější verzi protiproudé chromatografie je její vysokorychlostní varianta, HSCCC. Také využívá dvě nemísitelné kapalné fáze, vodnou a organickou, přičemž jedna slouží jako mobilní a druhá jako stacionární. Pro separaci anthokyanů je vždy jedna fáze složena z následujících rozpouštědel: terc-butylmethylether/butanol/acetoni-tril/voda (2:2:1:5), okyselených slabou kyselinou trifluoroctovou. Druhá fáze je volena podle povahy analytu. Pro anthokyanu acylované kumaryl alkoholem to byl ethyl acetát a voda (1:1) okyselené trifluoroctovou kyselinou, pro acetylované anthokyanu zase směs ethyl acetát/butanol/voda (4:1:5).

HSCCC se v současnosti využívá nejen pro purifikaci anthokyanů, ale i celého spektra přírodních látek. Její výhodou je především vysoká čistota získaných sloučenin. Může být spojena s hmotnostním detektorem nebo NMR [32, 45, 48].

### ***Kapilární elektroforéza (CE)***

Pro stanovení anthokyanů a dalších polyfenolů je nejoblíbenější a masově užívaná technika HPLC. V poslední době v této oblasti stoupá i popularita kapilární elektroforézy. Zejména díky vysokému rozlišení, nízké spotřebě vzorku i rozpouštědla, minimální tvorbě odpadu (cca 1 – 2 ml za den) a krátkému času analýzy. Další výhodou je vyšší životnost kapilár naproti kolonám, které jsou zanášeny řadou interferujících sloučenin a v porovnání s kapilárami se hůře promývají. Na druhou stranu má CE nižší citlivost a horší reprodukovatelnost než HPLC.

Kapilární elektroforéza rozděluje sloučeniny v závislosti na jejich elektroforetické mobilitě. Instrumentace kapilární elektroforézy se skládá ze dvou rezervoárů, kapiláry obsahující nosný elektrolyt a vysokonapěťového zdroje. Mobilní fáze se pohybuje kapilárou směrem od anody ke katodě.

Existuje několik módů kapilární elektroforézy: kapilární zónová elektroforéza (CZE), micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC), kapilární elektrochromatografie (CEC), kapilární gelová elektroforéza (CGE) a kapilární isotachoforéza (CITP). Kapilární zónová elektroforéza a micelární elektrokinetická chromatografie jsou dvě „klasické“ metody pro separaci polyfenolů.

Kapilární zónová elektroforéza je založena na rozdílné rychlosti migrace nabitých částic způsobené jejich odlišným poměrem hmotnosti k náboji. Díky elektroosmotickému toku zapříčiněnému negativním nábojem kapiláry lze touto metodou analyzovat zároveň částice s kladným i záporným nábojem.

Micelární elektrokinetická chromatografie je výhodná svou schopností separovat látky se stejnou elektroforetickou mobilitou, jako například neutrální analyty. Je založena na tvorbě

micel určité aktivní látky, jejíž koncentrace přesahuje kritickou micelární koncentraci. Micely pak slouží jako pseudostacionární fáze.

První zmínka o separaci anthokyanů kapilární elektroforézou v odborné literatuře pochází z roku 1996. Kapilární zónová elektroforéza byla použita například na separaci anthokyanů černého rybízu a micelární elektrokinetická chromatografie pro anthokyaniny černého bezu v komerčně dostupných potravinách (džusy, marmelády a cukrovinky). [42, 47, 48, 49]

## 2.3 Kyselina askorbová

### 2.3.1 Historie

Vlastní historie vitamínu C zhruba se počítá od začátku 20. století. Intenzivní výzkum nastal po první světové válce s cílem izolovat tento antiskorbutický faktor, který dostal pojmenování vitamín C. Izolace se podařila roku 1923 (dle některých zdrojů 1928) a zároveň s ní byla určena i struktura. Objevitel, pan Szent-Györgyi Albert von Nagrapolt, dostal v souvislosti s vitamínem C r. 1937 Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství.

První práce jsou plně rozporů mezi antiskorbutickým účinkem a redukčními vlastnostmi izolované sloučeniny. Vysvětlení přinesl roku 1932 Tillmans, který správně usoudil, že vitamín C může podléhat reverzibilní oxidaci i redukci bez ztráty antiskorbutické aktivity.

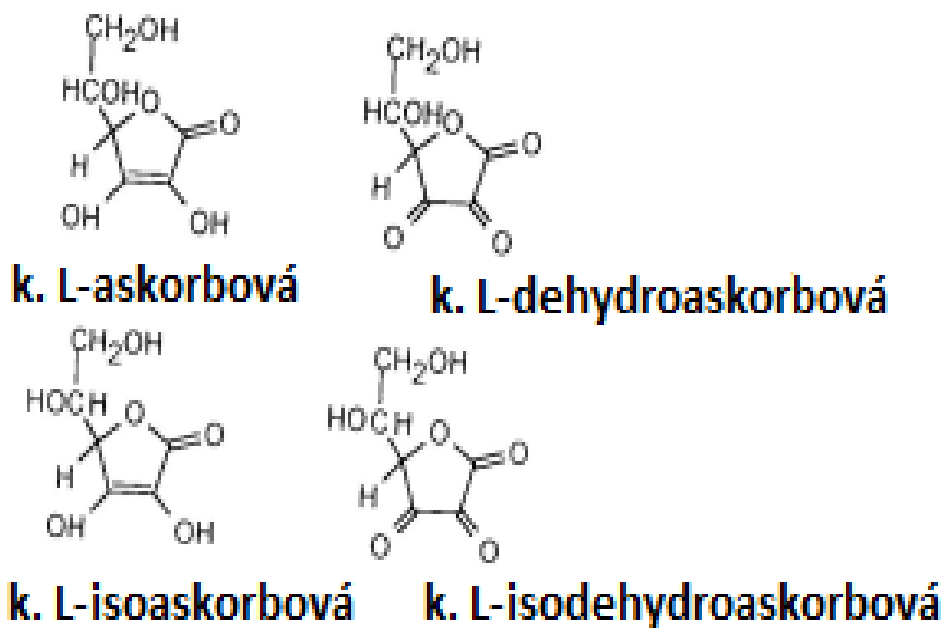
Poznatky von Nagrapolta umožnily jeho syntetickou velkovýrobu v současnosti. Další způsob velkoprodukce vitamínu C je pomocí geneticky modifikovaných mikroorganismů [19, 23, 50].

### 2.3.2 Vlastnosti a reaktivita

#### *Fyzikální vlastnosti a struktura*

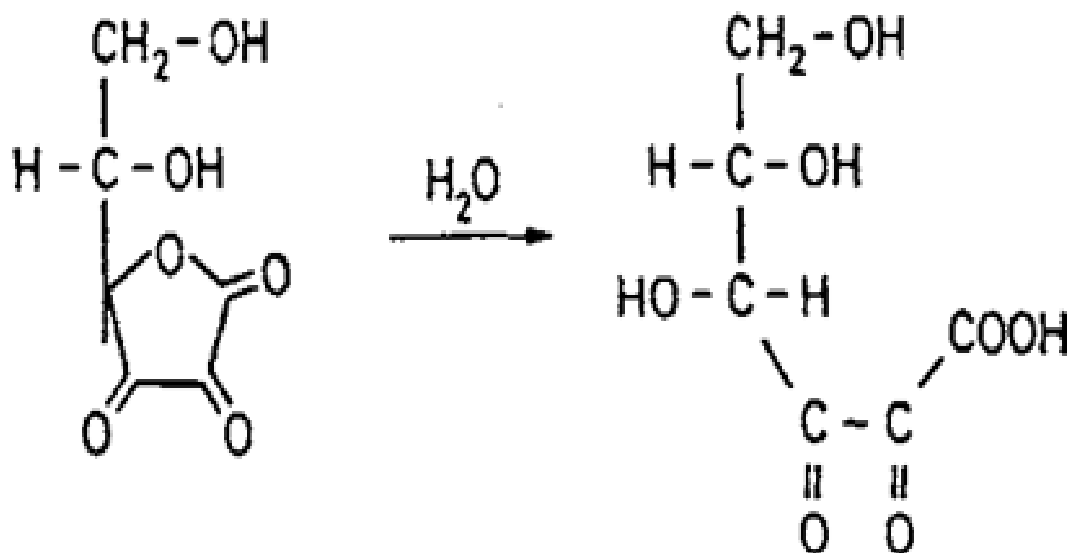
Kyselina askorbová je vlastně  $\gamma$ -lakton L-keto-treo-hexuronové kyseliny [29]. Svým vzorcem připomíná molekulu monosacharidu, s redukčními a kyselými vlastnostmi. Ty jsou způsobené dvěma hydroxylovými skupinami na uhlících C2 a C3 s disociačními konstantami  $pK_{a1} = 4,04$  pro C3 a  $pK_{a2} = 11,4$  pro C2 [20].

Kyselina askorbová tvoří bezbarvé krystalky nakyslé chuti, které jsou velmi nestálé a poměrně snadno se vratně ztrátou dvou elektronů oxidují na kyselinu dehydroaskorbovou, bez makroskopické změny. Molekula má hned dvě centra optické aktivity, a proto existuje ve formě 4 možných enantiomerů. Kyselina D-askorbová se z chemického hlediska chová stejně jako L-askorbová, avšak nemá v podstatě žádnou vitamínovou aktivitu. Stejně tak nemá žádnou výživovou hodnotu ani kyselina D-isoaskorbová, která je na níže uvedeném obrázku pominuta. Kyselina L-isoaskorbová hojně používá jakožto potravinářské aditivum (spolu s L-askorbovou) pro své redukční a antioxidační účinky [19, 20].



Obr. 22. Kyselina askorbová a isoaskorbová se svými redukovánými formami. Značka k. = kyselina [20].

Účinky vitamínu se nenávratně ztratí při ireverzibilním otevření laktonového kruhu za vzniku 2,3-diketogulonové kyseliny [29].



Obr. 23. Degradace kyseliny dehydroaskorbové na neaktivní formu vitamínu C [29].

Kyselina askorbová má vysoce polární charakter, a proto je snadno rozpustná ve vodných a nerozpustná v nepolárních rozpouštědlech [29].

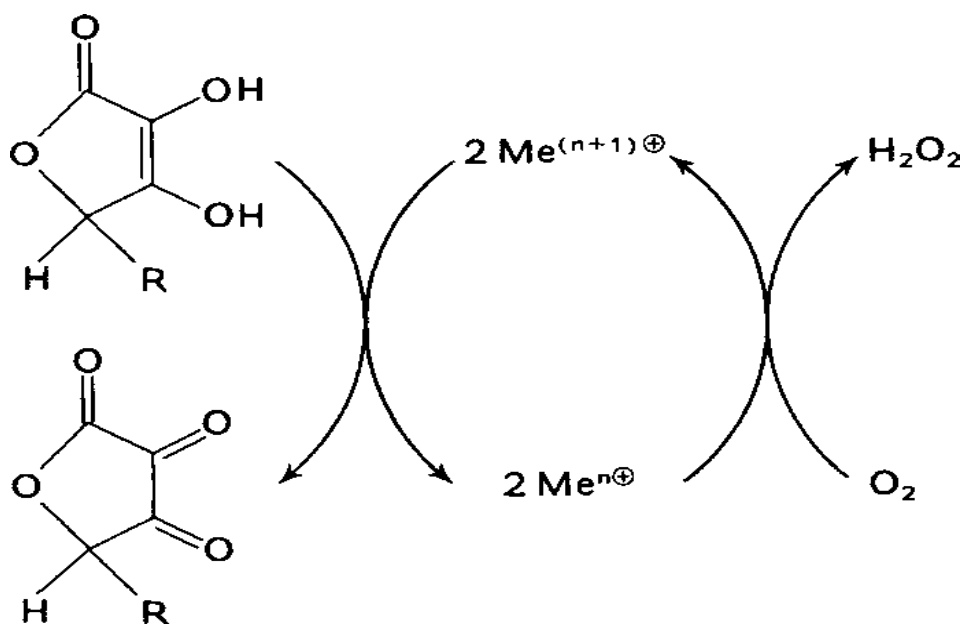
## Reaktivita

Jak vyplývá ze struktury a disociačních konstant kyseliny askorbové, i přes absenci karboxylové funkční skupiny ji můžeme považovat za dvojsytnou kyselinu. Ve fyziologických roztocích se vyskytuje převážně jako anion, nejčastěji monovalentní (viz hodnoty disociačních konstant). Kyselina dehydroaskorbová je ve vodných roztocích přítomna jako hydratovaný bicyklický monomer [50].

Oxidace kyseliny askorbové na dehydroaskorbovou a vznik následných degradačních produktů závisí na celé řadě parametrů. Protože ji oxiduje vzdušný kyslík a různá chemická oxidační činidla, jsou těmi nejdůležitějšími parciální tlak kyslíku, pH, teplota a přítomnost iontů těžkých kovů [29]. K oxidaci je potřeba přítomnost oxidoreduktáz, nazývaných také jako **antivitamin C**. Náleží sem například askorbátoxidáza, askorbátperoxidáza, monodehydroaskorbátreduktáza, dehydroaskorbátreduktáza, superoxidodismutáza a další. Nepřímo způsobují ztráty askorbové kyseliny další oxidoreduktázy triviálně nazývané jako polyfenolasy a některé další [50].

Rozepišme si nyní některé položky z uvedeného výčtu.

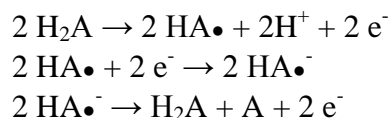
**Oxidace katalyzovaná kovovými ionty** má daleko větší kvantitativní vliv než nekatalyzovaná samovolná oxidace. Proto přítomnost iontů těžkých kovů, zejména  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , způsobuje velké ztráty vitamínu C. Princip kovové katalýzy je schematicky zobrazen na Obr. 244. [29]



Obr. 24. Schéma oxidace kyseliny L-askorbové katalyzované kovovými ionty [29].

Peroxid vodíku může být v těchto reakcích nahrazen peroxidem lipidů. Prooxidační účinky kyseliny askorbové se neprojeví v případech, kdy je její koncentrace dostatečně vysoká i přesto, že s růstem koncentrace vzniká větší množství železnatých iontů a tím pádem i peroxidu vodíku a hydroxylových aniontů. V tomto případě totiž dochází k tzv. kompetitivní reakci s volnými radikály a askorbová kyselina se uplatní jako antioxidant [50].

**Enzymová oxidace** probíhá v rostlinných pletivech poškozených loupáním, krájením a dalšími mechanickými zásahy. Je katalyzována především askorbát oxidasou (L-askorbát  $O_2$  oxidoreduktáza). Tuto reakci lze popsat následujícími rovnicemi, kde  $H_2A$  znamená askorbovou kyselinu,  $HA\bullet$  askorboylradikál respektive jeho anion  $HA\bullet^-$  a  $A$  značí kyselinu dehydroaskorbovou:



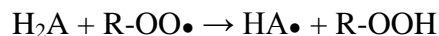
Celá reakce se opakuje tak dlouho, dokud není všechna kyselina askorbová zoxidována. Jde o kompletně vratný děj [50].

Většinu ztrát kyseliny askorbové v potravinách však způsobuje **autooxidace**, což je její oxidace vzdušným kyslíkem. Není závislá na přítomnosti kovových iontů a její rychlost se odvíjí od pH prostředí (nejpomalejší v kyselém a nejrychlejší v alkalickém prostředí). Podle současných studií lze její průběh vystihnout následující rovnicí, kde  $HA-OO^-$  znamená C-2 hydroperoxid aniontu kyseliny L-askorbové:



Z askorboylradikálu vzniká následující reakcí anion. [50]

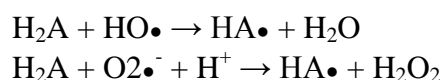
Hlavní antioxidační kapacita vitamínu C je dána reakcí kyseliny L-askorbové i jejích isomerů a derivátů s volnými radikály. Brzdí řetězovou autooxidační reakci a působí jako účinné antioxidanty. Tuto reakci s peroxylovým radikálem mastné kyseliny ( $R-OO\bullet$ ) za vzniku hydroxyperoxidu mastné kyseliny ( $ROOH$ ) znázorňuje rovnice:



Vzniklý askorboylradikál disproportionuje na askorbovou a dehydroaskorbovou kyselinu.

Kyselina askorbová je účinný antioxidant sama o sobě a ještě silnější je v kombinaci s tokoferoly, protože ty díky své nepolární povaze reagují s volnými radikály lipidů. Vzniklé radikály tokoferolů se pohybují na fázovém rozhraní tuk-voda a radikálová část ve vodné fázi je redukována zpět právě pomocí kyseliny askorbové.

Kyselina askorbová reaguje nejen s peroxylovými radikály, ale i s toxickými formami kyslíku jako je hydroxylový radikál ( $HO\bullet$ ), anion superoxidového radikálu ( $O_2\bullet^-$ ) a singletový kyslík ( $^1O_2$ ). Předpokládaný průběh:



Protože se věnujeme vitamínu C v souvislosti s potravinami, nelze nezmínit interakce kyseliny L-askorbové s reaktivními složkami potravin. Je jich mnoho, rozepíšeme proto pouze dva – z pohledu výskytu v angreštu – nejdůležitější typy.

Pokud jsou v matici potraviny přítomny **aminokyseliny**, mohou s nimi askorbová kyselina, dehydroaskorbová kyselina a jejich degradační produkty vstupovat do Maillardových reakcí. Příkladem je reakce dehydroaskorbové kyseliny s amino sloučeninami za vzniku hnědých pigmentů, které zapříčiňují nežádoucí hnědnutí dehydratovaných

ovocných džusů a sušeného ovoce [29], obecně u všech poživatin s nízkou aktivitou vody a poměrně vysokým obsahem vitamínu C [50].

Na druhou stranu, přítomnost kyseliny askorbové může hnědnutí i předcházet. Je to v tom případě, že v poškozených rostlinných pletivech o nižším obsahu vitamínu C oxidují výše zmíněné oxidázy místo vitamínu C přítomné rostlinné fenoly. Vznikají polymerní hnědé pigmenty. Kyselina askorbová **reaguje s oxidovanými fenoly** (chinony) a redukuje je zpět na výchozí difenoly. Sama se oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou [50].

Nad to se v potravinách setkáme s reakcí kyseliny askorbové spolu s dusinaty (u masných výrobků), hemovými barvivy, bílkovinami, karbonylovými sloučeninami aj. [50]

### 2.3.3 Fyziologie a výživa

#### *Biologická dostupnost*

Ještě před výčtem účinků vitamínu C je dobré prozkoumat, zda a v jakém množství se vstřebává z potravy.

Biologická dostupnost kyseliny askorbové ve vařené brokolici, dužině pomeranče a pomerančovém džusu je stejná jako u multivitaminových tablet používaných jakožto doplněk stravy. Biologická dostupnost kyseliny askorbové v syrové brokolici je o 20 % nižší než u vařené. To může být způsobeno ztíženým procesem rozkousání nebo trávení. Relativně malý rozdíl ve vstřebatelnosti kyseliny askorbové ze syrové versus vařené zeleniny má malý výživový význam, zejména s ohledem na ztráty způsobené vařením [20].

Z mnoha nedávných výzkumů je jasné, že biologická dostupnost kyseliny askorbové v naprosté většině ovoce a zeleniny je vysoká [20]. Některé zdroje mluví o tom, že je plně vstřebána a volně rozváděna krevním řečištěm po těle. Největší koncentrace byla naměřena v hypofýze. Biologická aktivita kyseliny dehydroaskorbové je zřejmě slabší než askorbové, protože její koncentrace v plazmě a tkáních je při požití stejného množství kyseliny askorbové a dehydroaskorbové nižší [29].

#### *Účinky na zdraví*

Vitamín C je vitamínem pouze pro člověka, primáty, morčata a netopýry živící se ovocem. Doporučená denní dávka se liší podle pohlaví a věku, pro dospělé muže a ženy se pohybuje v rozmezí 100 – 200 mg.

Základní biologicky aktivní sloučeninou vitamínu C je kyselina askorbová. Protože má silné redukční vlastnosti (sama se oxiduje na dehydroaskorbouou), účastní se klíčových oxidoredukčních dějů napříč všemi tělesnými systémy. Vitamín C se podílí především na hydroxylačních reakcích (obohacení o OH skupinu). K nejvýznamnějším patří:

- hydroxylace prolínu a lyzínu během tvorby kolagenu, který tvoří pojivo v kůži, chrupavkách, šlachách a kostech (důvod skorbutu při nedostatku vitamínu C)
- hydroxylace tyrozinu při biosyntéze adrenalinu a kortikosteroidů
- vitamín C hraje dále roli při syntéze steroidních (pohlavních) hormonů

Protože urychluje resorpci železa redukcí  $\text{Fe}^{3+}$  na  $\text{Fe}^{2+}$ , je nepostradatelný při tvorbě červených krvinek. Je důležitý při transportu železa.

Nad to všechno je silným antioxidantem – reaguje s aktivními formami kyslíku, respektive s volnými radikály, a s oxidovanými formami vitamínu C. Tím chrání membránové lipidy před oxidací. Stabilizuje labilní formu kyseliny listové (tetrahydrofolacín). Uplatňuje se i v metabolismu cholesterolu a působí pozitivně na omezení výskytu kardiovaskulárních onemocnění. Dostatečná hladina vitamínu C stimuluje tvorbu bílých krvinek a ovlivňuje i mobilitu fagocytů. To vysvětluje jeho pozitivní vliv na imunitu. Potlačuje infekci dýchacích cest a redukuje příznaky astmatu a alergie. Potvrdila se i jeho úloha při ochraně proti volným radikálům vzniklých vlivem slunečního záření. Podtrženo, sečteno, všechny úlohy vitamínu C v metabolismu vycházejí především z jeho oxidačně-redukční aktivity. [23, 29, 50]

### ***Hypovitaminóza***

Klasickým a všeobecně známým projevem nedostatku jsou kurděje neboli skorbut. Znali ho už antičtí lékaři, mezi nimi i Hippokrates, a potýkaly se s ním Caesarovy a Napoleonovy armády stejně jako slavné objevitelské výpravy Vasca de Gamy nebo Krištofa Kolumba. Situace se v Evropě zlepšila až v 18. století, kdy se rozšířilo pěstování brambor. Skorbut se projevuje zduřením a krvácením dásní, uvolňováním zubů, opuchnutými klouby a tělesnou únavou. Dnes se naštěstí již díky podmínkám, v nichž žijeme, se skorbutem nesetkáváme. Nedostatkem ale častokrát nevědomky trpí lidé vystavení dlouhodobému stresu, protože, jak bylo již zmíněno výše, lidské tělo vitamín C potřebuje pro tvorbu stresového hormonu adrenalinu. Tyto osoby by měly zvážit zvýšený příjem vitamínu C v potravě nebo jeho suplementaci. Projevem nedostatku je hlavně celková únava, dále zvýšená náchylnost na infekční onemocnění, svalová únava, krvácení sliznic a podkožní krvácení (modřiny bez úrazu). [23, 50]

### ***Hypervitaminóza***

Naštěstí při běžné konzumaci nehrozí, protože vitamín C je jakožto ve vodě rozpustný vyloučen močí. Dávky vyšší než 1000 mg, tzv. megadávky, mohou vyvolat žaludeční křeče nebo průjem. Toxicita je neznámá. [23]

### **3.3.4 Využití v potravinářství**

Kyselina askorbová je díky svým vhodným vlastnostem (vitamín, antioxidační agens a chelatační činidlo) hojně používána jako aditivum v mnoha odvětvích potravinářského průmyslu. Těmi nejhlavnějšími jsou konzervářská, kvasná, cerální technologie a technologie masa a tuků. [20, 23, 50]

V **masném průmyslu** se do nakládaného masa a masných výrobků (např. šunky) přidává hned několik derivátů kyseliny askorbové: askorbát sodný (nerozpustný), 6-palmitoyl-L-askorbová kyselina (lipofilní) a acetyly askorbové kyseliny odvozené od masných aldehydů (stabilnější než askorbylpalmitát). Jejich přítomnost má funkční i ekonomický význam:

- Podstatně zkvalitňují a zrychlují výrobu.
- Přidávají se společně s dusitany a zabraňují tvorbě karcinogenních nitrosaminů.

- Nitroxymyoglobin (charakteristický pigment syrového masa ošetřeného dusitanů) se tvoří třikrát tak rychleji. Tím je možné zkrátit dobu uzení a navíc i získat výrobky se stabilnějším zbarvením.
- Askorbová kyselina zvyšuje inhibiční účinky dusitanů na bakterie *Clostridium botulinum*.
- Pokud se použijí k nakládání masa dusičnany, deriváty kyseliny askorbové je zredukuje na dusitany.

V **kvasné technologii** přídavek kyseliny askorbové v množství 20 – 30 mg.kg<sup>-1</sup> zabraňuje tvorbě tzv. chladových a oxidačních zákalů piva a vína a jejich dalším nežádoucím změnám. Například posunu chuti a vůně v důsledku oxidace, k níž dochází během pasterace a skladování. [23, 50]

I v **pekařství** se využívá antioxidačních vlastností kyseliny askorbové. V množství 10 – 100 mg.kg<sup>-1</sup> se přidává do mouky pro zlepšení pekařských vlastností. Postupem času při delším skladování dochází k degradaci karotenoidních barviv (odbarvení mouky) a vzniku disulfidických vazeb v molekulách přítomných bílkovin. Toho se využívá zvláště při tzv. Cherleywoodském způsobu výroby bílého chleba. [23, 50]

Askorbylpalmitát se v množství 0,006 – 0,040 % přidává do **tuků a olejů** jako antioxidant, protože kyselina askorbová inhibuje autooxidaci lipidů hned několika mechanismy. Zahrnují zhášení singletového kyslíku, redukci kyslíkových a uhlíkových radikálů, přednostní oxidaci askorbátu na úkor olejů a regeneraci ostatních antioxidantů, například redukci radikálů vitamínu E, tokoferolu [20, 50].

Při zpracování **ovoce a zeleniny** se kyselina askorbová využívá různým způsobem [23, 50]:

- Přidává se do džusů a jiných ovocných a zeleninových nápojů na obohacení jejich vitamínové hodnoty a organoleptickým vlastnostem. Nutno ale podotknout, že vlivem skladování se může její obsah snížit v ovocných šťávách o 20 – 40 %.
- Vitamín C najdeme jako aditivum i v konzervovaném a mrazírensky skladovaném ovoci jako prevenci nežádoucích změn v důsledku oxidace při skladování a zpracování. Při konzervářském zpracování ovoce a zeleniny se hodně vitamínu C ztrácí vyluhováním během umývání, předváření, vaření a sterilizace. Velikost ztrát závisí na pH, teplotě, množství použité vody délce tepelného zásahu, přítomnosti kyslíku a těžkých kovů.
- Během zpracování zeleniny mléčným kvašením se ztrácí asi polovina tohoto hodnotného vitamínu. I přes to kysané zelí výrazně pomáhalo proti skorbutu.
- Při loupání, krájení a sušení ovoce, zeleniny a brambor se kyselina askorbová používá – často spolu s kyselinou citrónovou – jako inhibitor enzymového hnědnutí. [23, 50]

### 2.3.5 Výskyt vitamínu C

Hlavními výživovými zdroji kyseliny askorbové jsou ovoce, zelenina a obohacené potraviny (například snídaňové cereálie). Kromě toho se přirozeně vyskytuje v menším množství v živočišných tkáních a dalších živočišných produktech [20]. Tím je například mléko, které obsahuje velmi málo vitamínu C (0,8 – 1,8 mg na 100 g). Maso obsahuje stopové množství kyseliny askorbové, výjimkou jsou vnitřnosti (játra mají zhruba 25 – 30 mg vitamínu C na 100 g své váhy). Vitamín C se nenachází ve vejcích, v obilninách pouze stopově (výjimku tvoří klíčky), stejně tak i ve vyšších houbách.

Nejbohatšími zdroji jsou tedy ovoce a zelenina. Vitamín C je zde přibližně z 90 % přítomný ve formě kyseliny askorbové, zbytek pak jako kyselina dehydroaskorbová. Mezi jednotlivými druhy ovoce a zeleniny existují co do obsahu veliké rozdíly způsobené jednak rozdílnou odrůdou, ale i pěstitelskými podmínkami, stupněm zralosti, způsobem skladování a nakonec i případného zpracování.

Níže uvedená tabulka dokumentuje obsah vitamínu C v některých druzích ovoce a zeleniny. Některé plodiny s jeho vysokým obsahem (černý rybíz, šípky, petrželová nať) se však v běžné stravě naší kultury a společnosti vyskytují pouze sporadicky, a proto se pro pokrytí denní dávky doporučují některé zdroje s průměrným obsahem vitamínu C, avšak konzumované ve větším množství a po celý rok, jako brambory, jablka atd. [23, 50]

Tab. 5. Porovnání obsahu vitamínu C v angreštu (červeně) s dalšími vybranými potravinami [50].

Potravina	Obsah vitamínu C [mg.kg <sup>-1</sup> nebo mg.dm <sup>-3</sup> v jedlém podílu]	Potravina	Obsah vitamínu C [mg.kg <sup>-1</sup> nebo mg.dm <sup>-3</sup> v jedlém podílu]
Maso	10 – 20	Mrkev	50 – 100
Šunka (vit. C jako aditivní látka)	300 – 500	Petržel kořenová	230
Vnitřnosti	50 – 340	Petržel kadeřavá	1500 – 2700
Mléko	5 – 20	Pažitka	430
Jablka	15 – 50	Pór	150 – 300
Švestky	25 – 45	Česnek	150 – 160
<b>Angrešt</b>	<b>330 – 480</b>	Kapusta hlávková	700 – 1400
Rybíz červený	200 – 500	Kapusta růžičková	1000 – 1030
Rybíz černý	1100 – 3000	Brokolice	1100 – 1130
Borůvky	90	Salát hlávkový	60 – 300
Melouny	130 – 590	Špenát	350 – 840
Pomeranče	300 – 600	Rajčata	80 – 380
Citrony	300 – 640	Lilek	80
Grapefruity	240 – 700	Paprika (různé druhy)	620 – 3000
Šípky	2500 – 10000	Brambory	80 – 400

Tab. 6. Obsah vitamínu C v angreštu podle různých zdrojů. Vytvořeno podle [18, 19, 23, 24, 50].

Zdroj (označeno číslem citace)	[19]	[50]	[23]	[18]	[24]
Uvedený obsah vitamínu C v angreštu [mg.100g <sup>-1</sup> ]	Až 50	33 - 48	22 - 45	24,4	cca 20 - 25

### 2.3.6 Metody stanovení

Pro stanovení kyseliny askorbové v potravinách existuje mnoho metod a výběr té nejvhodnější při dané matici je klíčový pro získání přesných a správných výsledků [20]. Dříve byla nejpopulárnější spektrofotometrická analýza. Nyní její oblíbenost poklesla ve prospěch HPLC, která je v porovnání se spektrofotometrickou analýzou přesnější a výkonnější. Dalšími poměrně hojně užívanými metodami pro stanovení kyseliny askorbové a dehydroaskorbové (protože vitamín C se vždy určuje jako suma jejich koncentrace) je kapilární zónová elektroforéza a voltametrie. [51]

#### *Titrační metody*

Pro stanovení vitamínu C bylo použito mnoho postupů s různými titranty. Za nejdůležitější jsou považovány tyto:

- Přímé stanovení titrací 2,6-dichlorofenolindofenolem (DCIP) v kyselém prostředí. Metoda je použitelná pouze pro vzorky bez obsahu minerálií. Existuje v několika modifikacích.
- Titrace tetrachlorbenzochinonem v přítomnosti EDTA, která slouží nejen jako indikátor, ale i jako chelatační činidlo k pohlcování interferujících kovových kationtů.
- Jodometrické a bromometrické metody. Z jejich výčtu uvedme například titraci N-bromsukcinimidem na škrobový indikátor, dále titraci jódem, jodidem draselným a bromidem draselným na škrobový indikátor či titraci o-jodosobenzoátu a o-diacetoxybenzoátu za neutrálního pH a použití 2,6-dichlorofenolindofenolu a jodidu draselného jakožto směšného indikátoru. Bod ekvivalence je indikován modrým zbarvením. Pro stanovení kyseliny askorbové byl použit rovněž chloramin T v přítomnosti okyseleného roztoku jodidu nebo bromidu draselného, bod ekvivalence je indikován modrým zbarvením škrobu. Velice výhodná je metoda využívající chloristan thality a síran měďnatý, protože stanovení není rušeno kyselinou citrónovou, jantarovou ani jablečnou, glukózou, fruktózou, sacharózou a řadou kationtů. Tyto látky jsou v matici vzorku téměř vždy přítomny. Bod ekvivalence lze detekovat na základě odbarvení z původní růžové barvy. Nevýhodou metody je nutnost inertní atmosféry.

Ačkoli jsou titrační metody poměrně jednoduché, skýtají tolik nevýhod, že musely být vyvinuty lepší, alternativní metody. [52]

### ***Elektrochemické metody***

Pro stanovení vitamínu C bylo použito mnoho elektrochemických metod.

**Polarografická analýza** předpokládá elektrochemickou oxidaci L-askorbové kyseliny na kapající rtuťové elektrodě. Jsou potřeba podpůrné elektrolyty (pufrů o pH 4,5). Tato analýza byla použita pro vzorky ovoce, zeleniny a dalších druhů potravin, ve farmacii aj.

Pro **voltametrickou analýzu** jsou využívány různé druhy elektrod. Své uplatnění našly uhlíkové elektrody, mikrodiskové elektrody, elektrody s interagujícími difúzními vrstvami a další. Nicméně jejich použitelnost a důvěryhodnost klesá úměrně s dobou jejich používání, protože je znečišťují produkty oxidace. Vzorky ovoce a zeleniny jsou nejčastěji analyzovány tzv. stripping voltametrií.

Při **potenciometrických titracích** se vitamín C stanovuje titrací N-bromsukcinimidem, síranem měďnatým, jódem a tetrachlorbenzochinonem.

**Kulometrie** má velmi úzké využití a v odborné literatuře nalezneme na toto téma pouze omezené množství publikací. Analýza je většinou založena na kvantitativní oxidaci askorbové kyseliny na platinové anodě. [52]

### ***Fluorometrické metody***

Fluorescence je měřena po kondenzaci kyseliny dehydroaskorbové s 2-kyanoacetamidem, *o*-fenylendiaminem nebo po kondenzaci kyseliny askorbové s 2,3-daminoaftalenem a díky aktivaci reakcí katalyzovaných hemoglobinem. Nepřímá fluorometrická metoda je založena na redukci  $Ce^{4+}$  na  $Ce^{3+}$  za emise charakteristické fluorescence. V praxi se s touto metodou setkáme u stanovení vitamínu C nejen v ovoci a zelenině, ale i v lidském séru. [52, 53]

### ***Chromatografické metody – HPLC***

Bylo zdokumentováno i stanovení vitamínu C plynovou chromatografií, kapalinová však bezkonkurenčně dominuje [53]. Pro její účely je vitamín C extrahován ze vzorku pomocí pufrů obsahujících kyselinu metafosforečnou nebo trichloroctovou [51].

Kyseliny askorbová a dehydroaskorbová patří do skupiny velmi malých polárních molekul. Z jejich podstaty vyplývají i hlavní principiální přístupy ke stanovení. U HPLC to jsou reverzně fázová, iontově výměnná, iontově párová, iontově vylučovací chromatografie a chromatografie založená na hydrofobních interakcích (HILIC, rovněž známá jako hydrofobní chromatografie). U všech technik může být použita buď fluorescenční, elektrochemická, hmotnostně spektrometrická detekce nebo detekce ultrafialovým světlem (nejčastěji pomocí detektorů diodového pole) [54].

**Chromatografie na reverzních fázích.** Tím, že je kyselina askorbová velmi polární, není stacionární fází téměř vůbec zadržována a eluuje hned na počátku analýzy, často ještě v mrtvém objemu. Pro získání odpovídající retence kolonou se používají mobilní fáze s vysokým obsahem vody v organickém nebo anorganickém pufru v kombinaci s nízkým pH (minimálně pod  $pK_a$  kyseliny askorbové). Tato kombinace je však dvojsečná, protože vodná mobilní fáze s organickým modifikátorem může negativně ovlivnit separační účinnost C18 stacionární fáze a nízké pH zase ničí kolony, jejichž částice jsou založeny na bázi silikagelu [54].

**Iontově párová chromatografie** je poměrně často využívána i přes to, že s sebou nese značné komplikace. Ať už je to nutnost pomalého gradientu mezi vodnou a organickou mobilní fází (nebezpečí vysrážení pufru), nebo špatná reprodukovatelnost a selektivita v důsledku toho, že mobilní fáze obsahují velký počet složek (často víc než 5), či nevyužitelnost pro detekci hmotnostním spektrometrem. Nad to dochází k intenzivnějšímu opotřebením kolony než při jiných módech HPLC. I přes své hojné použití lze tedy konstatovat, že iontově párová chromatografie není ideálním přístupem pro moderní analytické laboratoře [54].

**Iontově výměnná chromatografie** patřila k prvním chromatografickým metodám analýzy vitamínu C a bylo zde využíváno skutečnosti, že kyselina askorbová je slabá organická kyselina, a proto je zadržována silnými anexy. Nyní je tato metoda občas používána v obměně se slabým anexem (amino skupina) a s anorganickým pufrům o nízkém pH. I přes to všechno se iontově párová chromatografie nikdy nestala masově oblíbenou metodou k analýze vitamínu C [54].

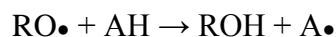
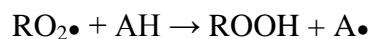
**Iontově vylučovací chromatografie.** Tento přístup byl hojně užívaný především v 90. letech 20. století a je založen na výluce iontů. Stacionární fází jsou obvykle sulfonované částice na bázi polystyren/divinylbenzenových pryskyřic. Mobilní fáze je anorganická kyselina (např. sírová, siřičitá, fosforečná) bez organického modifikátoru. Tato metoda je mnohem „eleganternější“ než reverzně fázová a iontově výměnná chromatografie [54].

**HILIC** neboli kapalinová chromatografie založená na hydrofobních interakcích, v češtině na ni lze narazit pod pojmem hydrofobní chromatografie. Je alternativou ke chromatografii na normálních i reverzních fázích a hodí se k analýze malých polárních molekul, které nejsou reverzně fázovým systémem zadržovány a vycházejí z kolony v mrtvém objemu. V současnosti nahrazuje HILIC pro své četné výhody chromatografii s normálními fázemi. Separace analytu je dána jeho rozdělováním mezi relativně nepolární eluent a vodnou vrstvou, která vzniká na hydrofilní stacionární fázi. Mobilní fáze obsahuje vysoký podíl organického rozpouštědla (typicky acetonitrilu) a menší poměr vody nebo vodného pufru. Hydrofobní chromatografie je často používána pro analýzu potravin, nápojů a farmaceutických preparátů. Naneštěstí není možné tímto způsobem stanovit kyselinu dehydroaskorbovou. [54]

## 2.4 Antioxidační aktivita

Zájem o antioxidační aktivitu potravin započal kolem roku 1990, kdy byl rozpoznán příznivý vliv ovoce, zeleniny, čajů, červeného vína, kávy, kakaa a dalších potravin na lidské zdraví. Množství a úroveň znalostí o úloze volných radikálů v živých organismech se za poslední desetiletí stále zvyšuje. Volnými radikály jsou především reaktivní formy kyslíku (ROS) a dusíku (RNS). Mezi volné radikály odvozené od kyslíku počítáme superoxid, peroxid vodíku, hydroxylový radikál (HO•), peroxylový radikál (ROO•) a alkoxylový radikál (RO•). Všechny výše jmenované vznikají při procesu oxidace v živých organismech, tedy i v našich tělech [55, 56, 57].

Níže uvedené rovnice dokumentují aktivitu antioxidantů při zhášení těchto radikálů. AH znamená antioxidant [29].



Látek s antioxidačním působením je skutečně mnoho. Jmenujme alespoň některé:

- Endogenní nízkomolekulární antioxidanty (glutathion, kyselina močová, koenzym Q)
- Antioxidační vitamíny (C, E) a karotenoidy
- Polyfenolické sloučeniny (např. flavonoidy, katechiny a fenolické kyseliny) a další přírodní látky. Celková doporučená denní dávka polyfenolů je odhadnuta na 1 g a převyšuje tedy příjem antioxidačních vitamínů. V řadě experimentálních studií bylo prokázáno, že jejich antioxidační účinek je silnější než antioxidačních vitamínů. [56]

Problematika antioxidační kapacity potravin má při nejmenším dvě strany. První z nich je antioxidační potenciál, který je dán antioxidačními vlastnostmi jednotlivých složek. Druhou je výsledný biologický efekt závislý na biologické dostupnosti. První pohled je předmětem potravinářské chemie, druhý patří na medicínsko-biologické pole [55].

#### 2.4.2 Fyziologie a výživa

Současný člověk je vystaven vlivům, které ještě na počátku 20. století v podstatě neexistovaly a při nichž dochází k tvorbě volných radikálů. Jsou to například chemické látky znečišťující životní prostředí (zbytky tuhých a tekutých paliv, rezidua pesticidů, popílek ze spalování komunálního odpadu apod.), radiační a sluneční UV záření, metabolismus lipidů, jejichž příjem u většiny populace přesahuje optimum, či nepřiměřená fyzická aktivita. [23]

Pokud je organismus dlouhodobě vystaven nadměrné tvorbě radikálů, dochází k chemickým reakcím, které jej mohou výrazně poškodit. Působením radikálů dochází k tzv. oxidačnímu stresu a jestliže není přítomen dostatek antioxidantů, jsou volné radikály prokazatelně původcem stárnutí a mnoha civilizačních onemocnění: artritid, aterosklerózy, koronárních onemocnění Alzheimerovy choroby a dalších neurodegenerativních onemocnění a rakoviny. [23, 47] Právě prokazatelné antikarcinogenní a další účinky jsou důvodem toho, proč se během posledních deseti let dostaly látky s antioxidační aktivitou do popředí zájmu odborníků v řadě potravinářských oborů [58]. Antioxidanty přítomné v potravě mohou působit buď přímo v gastrointestinálním traktu, nebo jsou resorbovány do organismu [56]. Zástupci drobného ovoce, mezi nimi i angrešt, jsou známi vysokými hodnotami antioxidační kapacity [59].

#### 2.4.3 Metody stanovení

Měření antioxidační aktivity je dobře zdokumentováno a běžně prováděno u potravin a dalších komerčních výrobků. Současné metody pro stanovení antioxidační kapacity jsou

jednoduché, vysoce výkonné a rychlé, což je určuje pro aplikaci ve výzkumu, potravinářském průmyslu a výzkumu léčiv.

Metody stanovení antioxidační kapacity lze rozdělit do dvou velkých skupin podle toho, zda jsou založeny na přenosu elektronu, nebo na přenosu vodíkového atomu.

Metody založené na přenosu vodíkového atomu měří kapacitu, s jakou antioxidanty zháší volné radikály (nejčastěji peroxylové) právě darováním vodíkového atomu. Řadíme sem metodu ORAC.

Metody založené na přenosu elektronu fungují na odlišném principu. Antioxidanty zde namísto s peroxylovým radikálem reagují s fluorescenční nebo barevnou sondou o vhodném redoxním potenciálu. Změna barvy se měří spektrofotometricky v daných časových intervalech. Metody založené na přenosu elektronu zahrnují například ABTS/TEAC, DPPH, FRAP a CUPRAC.

Přenos elektronu se dá měřit také elektrochemicky. Tyto techniky závisí na oxidaci fenolických sloučenin. Nejčastěji používanými analytickými metodami jsou CV (cyklická voltametrie) a FIA-ED [60].

**Metoda ABTS/TEAC**, kterou lze v literatuře najít také pod názvem **ABTS/TROLOX** nebo jenom **TEAC**, je v současnosti pravděpodobně nejvíce užívanou nepřímou metodou. Pro svou jednoduchost a rychlost našla široké uplatnění – byly popsány aplikace v hydrofilním i lipofilním prostředí. Principem je schopnost vzorku zhášet  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , kation-radikál vzniklý oxidací ABTS (2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát) a tato naměřená antiradikálová aktivita vzorku je pak srovnávána s aktivitou syntetické látky TROLOX (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina). Odtud také zkratka TEAC (TROLOX equivalent antioxidant capacity).

Modro-zelený kation-radikál  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  silně absorbuje v rozmezí vlnových délek 600 – 750 nm a může být proto snadno změřen spektrofotometricky, nejčastěji při vlnové délce 734 nm. V experimentální praxi se používají nejčastěji dva hlavní přístupy. Při prvním se antioxidant přidává do směsi, kde byl již  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  vytvořen (například enzymaticky peroxidázou nebo chemicky peroxidisíranem draselným či oxidem manganičitým), u druhého uspořádání  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  vzniká v průběhu měření. První přístup je častější. Celková antioxidační kapacita vzorku se hodnotí parametrem TEAC, jak již bylo zmíněno výše. Relativní antioxidační aktivita je definována jako koncentrace TROLOXu se stejnou antioxidační aktivitou, jako má 1 mM koncentrace stanovovaného vzorku. [55, 56, 57, 58]

**Metoda podle Kanedy** neboli **DPPH** je nejstarší nepřímá metoda pro stanovení antioxidační kapacity, poprvé byla použita v 50. letech 20. století. V průběhu let byla metoda zoptimalizována pro určení antioxidačního potenciálu jednotlivých fenolů, potravin a biologických vzorků. Svě jméno nese podle hlavního reagentu DPPH, totiž 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl, uváděný též pod názvem 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, který je díky své struktuře stabilním volným radikálem a může přijímat atom vodíku za vzniku stabilní diamagnetické molekuly DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Intenzivní fialové zbarvení, které způsobuje nepárový elektron na dusíku hydrazylu, je měřitelné při vlnové délce 517 nm. Pokles absorbance se měří buď po uplynutí konstantního času, nebo se pracuje v kinetickém režimu. [55, 56, 58]

**Metoda FRAP** (Ferric Reducing Antioxidant Power) je založena na schopnosti antioxidantů redukovat  $\text{Fe}^{\text{III}}$  na  $\text{Fe}^{\text{II}}$ . Při této metodě je železo komplexně vázáno v molekule TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin). Redukce je doprovázena vznikem barevného komplexu o absorpenci při 593 nm. Hodnoty FRAP bývají často vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny askorbové, a proto se FRAP nejčastěji používá pro stanovení antioxidantní aktivity červených vín, džusů a čajů. Vztah mezi FRAP a antioxidantní kapacitou zůstává stále otázkou. Metoda odráží spíše schopnost látek redukovat železitý kation a nemusí pozitivně korelovat s celkovou antioxidantní kapacitou vzorku. Navíc je limitována nefyziologickou hodnotou pH (3-6), při které měření probíhá. [55, 56, 59]

**Metoda ORAC** (Oxygen Radical Absorbance Capacity) spočívá ve vytváření kyslíkových radikálů, kdy se hodnotí schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Ke generaci radikálů se používá AAPH (2,2'-azobis(isobutyrimidamid)-dihydrochlorid) a systém  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cu}^{2+}$ . V prvním případě vznikají peroxylové radikály, ve druhém hydroxylové. U originální metody ORAC je detekce založena na sledování úbytku fluorescence  $\beta$ -fykoerytrinu ( $\beta$ -PE), značí se pak často jako  $\text{ORAC}_{\text{PE}}$ . Tato metoda má široké využití pro vzorky různého typu, ale zároveň skýtá i některá omezení, například sníženou fotostabilitu. Tuto vadu lze kompenzovat zavedením jiné sondy, a sice fluoresceinu.  $\text{ORAC}_{\text{FL}}$  je přesnější a považuje se za exaktnější díky přesnému a jednoduchému reakčnímu mechanismu. [56]

**Cyklická voltametrie** měří redoxní vlastnosti látek na základě jejich schopnosti odštěpovat elektrony. Na pracovní elektrodu se vkládá potenciálový pulz o určité rychlosti polarizace a současně se sledují proudové odezvy v roztoku studované látky. Výsledkem je tzv. cyklický voltamogram, kde se redukční schopnost látek vyhodnocuje z potenciálu anodického oxidačního píku  $E_A$  a jeho anodického proudu  $I_A$ . Metoda je vhodná pro určení, jestli látka snadno odevzdává elektrony, a na základě toho je pak možno zvolit další způsob určení antioxidantní kapacity. Výsledky cyklické voltametrie velmi přesně korelují např. s lipoperoxidací nebo DPPH. [56]

## **3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

---

### **3.1 Použité vzorky**

Použité vzorky nových odrůd angreštu (viz kapitola 2.1.6) jsou analyzovány ve spolupráci s Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským Holovousy, s.r.o. Sklizeň 2012 pochází ze dvou míst. První z nich je Šlechtitelské stanice Želešice (součást společnosti AGROGEN s.r.o.), odkud byly zaslány odrůdy Alan, Hinnonmaki Rot, Invicta a Karmen, sklizeny 12. 8. 2012 v množství cca 200 g od každé odrůdy. Ve stejném množství byly 18. 8. 2012 sklizeny a k výzkumu vybraných nutričních parametrů byly expedovány i odrůdy Rolonda a Spine Free, pocházející ze soukromé zahrady v katastru obce Padochov – Oslavany. Ze stejného místa byla získána i sklizeň 2011. Všechny vzorky byly uchovávány na Fakultě chemické VUT Brno, Ústavu chemie potravin a biotechnologií v mrazničce při -18°C.

### **3.2 Laboratorní vybavení**

#### **3.2.1 Pomůcky**

- Běžné laboratorní sklo (kádinky, zkumavky, odměrné baňky atd.)
- Stojan na zkumavky
- Nůž a dřevěné prkénko
- Büchnerova nálevka
- Tlustostěnná kuželová baňka
- Gáza
- Petriho misky
- Třecí miska s tloučkem
- Exsikátor
- Filtrační papír K0 (Papírny Perštejn, ČR)
- Injekční stříkačka, 2 ml (Chirana Injecta, SR)
- MCE Syringe mikrofiltry, 0,45 µm (Fischer Scientific, USA)
- Automatická pipeta (Biohit, Finsko)
- Automatická pipeta Lab Mate (HTL, Polsko)
- Skleněná kyveta

### 3.2.2 Přístroje

- Analytické váhy (Boeco, Německo)
- Analytické váhy HR-120-EC (A&D Instruments LTD, Japonsko)
- Ruční homogenizátor Ultra Turrax T18 Basic (IKA, Německo)
- Magnetická míchačka (Lavat, ČR)
- Vývěva KNF LAB Laboport (Labicom, ČR)
- Přístroj na přípravu deionizované vody (Labicom, ČR)
- Centrifuga T 52.1 (MLW, Německo)
- Refraktometr 131420 (Carl Zeiss AG, Německo)
- Ultrazvuková lázeň NETZ (Kraintek, SR)
- Chladnička a mraznička (Gorenje, Slovinsko)
- Chladnička a mraznička Fresh Line (Amica, Polsko)
- Sušárna UNB 400 (Memmert, Německo)
- pH metr (Monokrystaly s.r.o., ČR)
- Spektrofotometr Helios Delta (Spectronic Unicam, USA)
- HPLC přístroj (Waters, USA)
- čerpadlo 1515 Isocratic HPLC pump (Waters, USA)
- UV detektor 2487 Dual  $\lambda$  Absorbance Detector (Waters, USA)
- Počítač (DELL, USA), software Breeze

### 3.2.3 Chemikálie

- 1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl (DPPH),  $C_{18}H_{12}N_5O_6$  (Sigma-Aldrich, Německo)
- Mentahol,  $CH_3OH$  (pro HPLC, Scharlau Chemie S.A., Španělsko)
- Methanol,  $CH_3OH$  (pro HPLC, Sigma Aldrich, Německo)
- Kyselina L-askorbová,  $C_6H_8O_6$  (Sigma Aldrich, Německo)
- Kyselina metafosforečná,  $HPO_3$ ,  $c \geq 33,5 \%$  (Sigma Aldrich, Německo)
- Dihydrogenfosforečnan draselný,  $KH_2PO_4$ , p.a. (Lachema a. s., ČR)
- Kyselina chlorovodíková,  $HCl$ , 35 % (Lach-ner s. r. o., ČR)
- Chlorid draselný,  $NaCl$ , p.a. (Lachema, ČR)
- Trihydrát octanu sodného,  $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ , p.a. (Lachema, ČR)
- Mořský písek (Lachema, ČR)

### 3.3 Stanovení vybraných nutričních faktorů

#### 3.3.1 Gravimetrické stanovení sušiny

##### *Postup*

Petriho misky byly v sušárně vyžihány do konstantní hmotnosti (105 °C po dobu 30 - 45 minut), poté přeneseny do exsikátoru a po vychladnutí zváženy.

Předem zvážená bobule angreštu byla zhomogenizována tyčovým homogenizátorem. Vzniklá suspenze byla kvantitativně převedena do Petriho misek. Kvůli vysokému obsahu cukru a kyselin, které katalyzovaly karamelizaci a Millardovy reakce i při nižších teplotách nebylo možné sušit angrešt ve formě celých bobulí.

Takto připravené vzorky byly vysušeny v sušárně. Po delším procesu optimalizace byl zvolen tento postup: nejprve byly vzorky vystaveny teplotě 50°C po dobu zhruba 24 hodin, tedy do druhého dne. Následně byla teplota zvýšena na 75°C a při této byly vzorky ponechány až do dosažení konstantního váhového úbytku. Doba ve druhé fázi záležela na množství přidané vody, většinou postačovalo 24 hodin, nebyl však problém s delším sušením, neboť nedocházelo k teplotní degeneraci vzorku a hmotnost zůstávala v těchto podmínkách konstantní dlouhou dobu.

Před vážením byly vzorky zchlazeny v exsikátorech po dobu zhruba 30 minut.

##### *Výpočet*

Celková sušina v bobulích angreštu byla vypočtena podle vzorce:

$$s [\%] = \frac{m_2}{m_1} \cdot 100 \quad (1)$$

kde  $s$  je obsah sušiny v plodech vyjádřen v hmotnostních procentech,  $m_2$  reprezentuje hmotnost již vysušeného plodu v gramech,  $m_1$  je hmotnost plodu před vysušením, rovněž v [g].

#### 3.3.2 Refraktometrické stanovení sušiny

##### *Postup*

Bobule angreštu byla rozmrazena a poté homogenizována s mořským pískem v třecí misce s tloučkem. Vzniklá suspenze byla pečlivě převedena do zkumavky a centrifugována po dobu 5 minut rychlostí zhruba 2500 otáček za minutu.

Před měřením byla nastavena nulová poloha refraktometru na destilovanou vodu. Následně byl přeměřen index lomu všech vzorků (roztok, který vznikl po centrifugaci nad supernatantem). Mezi měřeními jednotlivých vzorků byly plochy hranolů refraktometru vždy očištěny buničinou zvlhčenou v destilované vodě a poté v ethanolu.

Vzorky byly zfiltrány přes filtrační papír o hustotě K0 a celý postup byl ještě jednou zopakován.

### **Výpočet**

Výsledky dvou paralelních měření byly otestovány na shodnost pomocí Lordova u-testu [61]:

$$u = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B|}{R_A + R_B} \quad (2)$$

Písmeno  $u$  značí vypočtené testové kritérium, které je bezrozměrné,  $\bar{x}_A$  průměr výsledků prvního souboru,  $\bar{x}_B$  druhého,  $R_A$  je rozpětí prvního souboru a  $R_B$  druhého. I ostatní veličiny jsou bezrozměrné vzhledem k tomu, že se vztahují k indexu lomu.

Následně byla dosažená hodnota porovnána s tabelovanými kritickými hodnotami pro hladiny statistické významnosti  $\alpha$  (0,05, která je přísnější než 0,01) a také pro daný počet měření (v našem případě 3). Její hodnota je 0,636 [62].

Teplotní korelace byla provedena podle vzorce [63]:

$$n_D^{20} = n_D^t + 0,00013 \cdot (t - 20) \quad (3)$$

Malé  $t$  znamená aktuální teplotu v laboratoři, která byla při daném měření 25 °C. Index lomu při 20 °C  $n_D^{20}$  a index lomu při dané teplotě  $n_D^{25}$  jsou bezrozměrné veličiny.

### **3.3.3 Stanovení anthokyanů pH diferenciální metodou**

#### **Postup**

##### *Příprava roztoků*

Pufir 0,025 mol.l<sup>-1</sup> KCl, pH = 1

Bylo naváženo 0,9305 g KCl. Po rozpuštění v asi 480 ml deionizované vody byl roztok okyselen koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH 1 a přelit do 500 ml odměrné baňky, následně doplněn deionizovanou vodou po rysku.

Pufir 0,4 mol.l<sup>-1</sup> CH<sub>3</sub>COONa, pH = 4,5

Navážka 27,2163 g trihydrátu octanu sodného byla rozpuštěna v asi 460 ml deionizované vody. Vzniklý roztok byl okyselen koncentrovanou HCl na pH 4,5 a převeden do 500 ml odměrné baňky, kde byl doplněn deionizovanou vodou po rysku.

##### *Příprava vzorku*

Plody angreštu byly nakrájeny na drobné kousky, aby byl eliminován vliv rozdílného obsahu anthokyanů (i ostatních stanovovaných nutričních parametrů) v jednotlivých bobulích, a bylo naváženo 10,0 g plodů s přesností na 4 desetinná místa. Navážka byla zhomogenizována ručním homogenizátorem, protlačena přes gázu a vzniklá hustá suspenze byla centrifugována na laboratorní centrifuze při rychlosti asi 2500 otáček.min<sup>-1</sup> po dobu asi 10 minut.

Pro každou odrůdu bylo připraveno 6 zkumavek. Do prvních 3 bylo pipetováno 2,9 ml roztoku octanu sodného, do dalších tří 2,9 ml roztoku chloridu draselného a do všech 0,1 ml šťávy z plodů dané odrůdy. Všechny šest zkumavek bylo proměřeno (každá třikrát) na spektrofotometru Heλios při vlnových délkách 510 a 700 nm. Jako blank posloužila v obou případech deionizovaná voda.

### **Výpočty**

Výpočet absorbance zředěného vzorku byl proveden na základě [44]:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH_1} - (A_{510} - A_{700})_{pH_{4,5}} \quad (4)$$

A znamená absorbanci a dolní indexy její hodnoty při příslušné vlnové délce a pH [58]. Obsah celkových monomerních anthokyanů byl vypočten tímto způsobem [44]:

$$c[\text{mg.l}^{-1}] = \frac{A.M.f}{\epsilon.l} \cdot 1000 \quad (5)$$

C je koncentrace, A výše vypočtená absorbance, M molární hmotnost převládajícího anthokyanu [ $\text{g.mol}^{-1}$ ], f značí faktor ředění, jehož hodnota je v našem případě 30,  $\epsilon$  molární extinkční koeficient pro dominantní anthokyan [ $\text{cm}^{-1}.\text{mol}^{-1}.\text{l}$ ] a l je délka kyvety [cm]. [44]

### **3.3.4 Stanovení vitamínu C pomocí HPLC**

#### **Postup**

##### *Příprava roztoků*

Mobilní fáze  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : methanol (9 :1)

Navážka 13,6025 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  byla za stálého míchání rozpuštěna v redestilované vodě, jejíž celkový objem činil 900 ml. Poté bylo přidáno 100 ml methanolu a roztok byl 15 minut ponechán v ultrazvukové lázni.

Roztok 2% kyseliny metafosforečné

Navážka 30,0042 g 33% kyseliny metafosforečné byla zalita 100 ml deionizované vody a za stálého míchání zahřívána na vařiči až do rozpuštění (ne však k varu). Po rozpuštění kyseliny metafosforečné byl roztok přelit do 500 ml odměrné baňky a doplněn deionizovanou vodou po rysku. Hotový roztok byl uchováván v lednici.

##### *Kalibrační přímka*

Nejprve byl vytvořen zásobní roztok o koncentraci kyseliny askorbové  $1 \text{ g.l}^{-1}$ . To znamená, že bylo naváženo 0,0251 g kyseliny askorbové, opatrně spláchnuto 2% roztokem kyseliny metafosforečné z navažovací lodičky do odměrné baňky o objemu 250 ml a doplněno roztokem extrakčního činidla po rysku. Ze zásobního roztoku byly vytvořeny standardy o koncentracích  $40 \text{ mg.l}^{-1}$  (400  $\mu\text{l}$  zásobního roztoku do 10 ml odměrné baňky),  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  (200  $\mu\text{l}$  do 10 ml odměrné baňky),  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  (100  $\mu\text{l}$  do 10 ml),  $1 \text{ mg.l}^{-1}$  (10  $\mu\text{l}$  do 10 ml). Pro první kalibrační přímku byly použity všechny výše uvedené koncentrace, pro druhou koncentrace 1, 10 a  $40 \text{ mg.l}^{-1}$ . Standardní roztoky byly připraveny ze zásobního vždy bezprostředně před analýzou. Zásobní roztok byl skladován v lednici.

### *Příprava vzorku*

Zmražené bobule angreštu byly nakrájeny na malé kousky, které byly mezi sebou náhodně promíchány. Poté byly naváženy 4 gramy (s přesností na 4 desetinná místa) této randomizované směsi, od každé odrůdy po 3 vzorcích.

Ke vzorku bylo přidáno zhruba 10 ml 2% kyseliny metafosforečné, aby bylo usnadněno rozmělnění ručním homogenizátorem. Vzorek byl následně převeden do 25 ml odměrné baňky. Do prázdné kádinky bylo nalito zhruba 10 ml kyseliny metafosforečné, jejíž pomocí byly odstraněny zbytky angreštu ze stěn kádinky i povrchu homogenizátoru. I tento objem byl převeden do odměrné baňky. Následně byla doplněna kyselina metafosforečná po rysku.

Vzorek byl zfiltrován za pomoci vývěvy přes Büchnerovu nálevku a filtrační papír o hrubosti K0.

### **3.3.5 Stanovení antioxidační kapacity metodou DPPH**

Navážka DPPH o hmotnosti 0,0010 g byla rozpuštěna v methanolu a kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 25 ml.

#### ***Pracovní postup***

K navážce 4,0672 g plodů odrůdy Invicta bylo přidáno asi 10 – 15 ml methanolu a byla zhomogenizována ručním homogenizátorem. Homogenizátor zbaven zbytků angreštu ponořením do dalších asi 15 ml methanolu při zapnutém režimu homogenizátoru. Výsledný objem asi 30 ml suspenze angreštu v methanolu byl přelit do 50 ml odměrné baňky a doplněn metanolem po rysku. Celý objem byl přefiltrován přes Büchnerovu nálevku za pomoci vakua.

Spektrometr HELIOS delta byl nastaven na vlnovou délku 517 nm a vynulován na methanol. Do kyvety bylo pipetováno vždy 1,5 ml připraveného roztoku DPPH a 1,5 ml roztoku vzorku, v případě dvojnásobného ředění 0,75 ml methanolu a 0,75 ml vzorku, u trojnásobného poté 0,5 ml vzorku a 1 ml methanolu.

Ihned po přidání vzorku byly spuštěny stopky a každých 10 s (včetně počátku v čase 0 s) byla po dobu šesti minut odečítána měnící se hodnota absorbance.

#### ***Výpočty***

Z naměřených hodnot byl sestrojen graf závislosti poklesu absorbance na čase a rovněž byla vypočtena zhášecí aktivita podle vzorce [64]:

$$\text{Zhášecí aktivita DPPH} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100 \quad (6)$$

Zhášecí aktivita DPPH je uvedena v %,  $A_0$  je absorbance bez přítomnosti antioxidantu (1,5 ml methanolu a 1,5 ml roztoku DPPH),  $A_1$  je absorbance v přítomnosti antioxidantu.

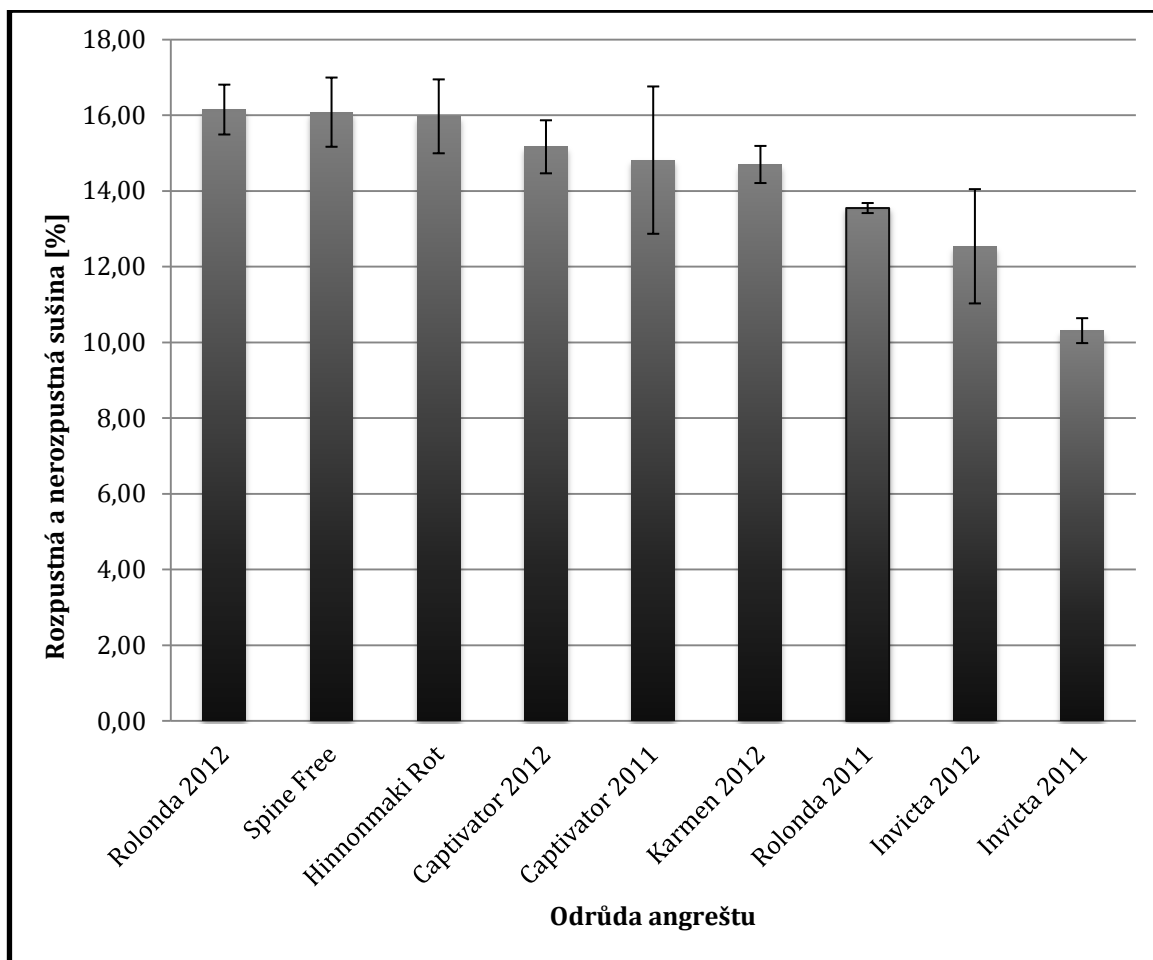
## 4. VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A DISKUZE

### 4.1 Gravimetrické stanovení sušiny

Hmotnostní sušina (součet rozpustné i nerozpustné sušiny) plodů *Ribes grossularia* zvážených na 4 desetinná místa byla vypočtena pomocí vzorce (1). Zároveň byla vypočítána hodnota intervalu spolehlivosti výsledku, který má z hlediska uvádění přesnosti výsledků větší relevanci než směrodatná odchylka. Je spolu s průměrnými hodnotami zaznačen jednak v tabulce a jednak v grafu (ve formě chybových úseček). Pro porovnání s tabelovanými výsledky bylo vypočítáno množství sušiny ve 100 g čerstvých plodů. Tato hodnota odpovídá procentuálnímu obsahu sušiny.

Tab. 7. Stanovení hmotnostní sušiny plodů angreštu.

Odrůda angreštu	Průměrná navážka plodu [g]	Celková sušina [%]
<b>Captivator 2011</b>	20,63 ± 1,01	14,81 ± 1,95
<b>Captivator 2012</b>	19,17 ± 1,90	15,16 ± 0,70
<b>Hinnonmaki Rot</b>	11,66 ± 0,64	15,97 ± 0,98
<b>Invicta 2011</b>	15,41 ± 1,60	10,31 ± 0,33
<b>Invicta 2012</b>	15,79 ± 1,24	12,54 ± 1,51
<b>Karmen 2012</b>	11,37 ± 0,67	14,70 ± 0,49
<b>Rolonda 2011</b>	16,96 ± 1,50	13,55 ± 0,13
<b>Rolonda 2012</b>	19,48 ± 1,49	16,15 ± 0,66
<b>Spine Free</b>	12,70 ± 1,71	16,08 ± 0,91



Graf 1. Obsah celkové sušiny nových odrůdách angreštu.

Největší obsah hmotnostní sušiny mají odrůdy Rolonda ( $16,15 \pm 0,66 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) a Spine Free ( $16,08 \pm 0,91 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) z roku 2012, nejmenší naopak odrůda Invicta 2011 ( $10,31 \pm 0,33 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Tabeľované hodnoty průměrného obsahu hmotnostní sušiny v bobulích angreštu jsou  $14,4 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  [18]. Pro účely statistického vyhodnocení správnosti stanovení obsahu hmotnostní sušiny v plodech angreštu byla tato tabelovaná hodnota považována za správnou a stanovené hodnoty s ní byly porovnány Studentovým testem správnosti *t*. Kritická hodnota na hladině statistické významnosti 0,05 je 4,303. Na základě toho je statisticky nevýznamný rozdíl tabelované a naměřené hodnoty hmotnostní sušiny u odrůd Captivator 2011, Rolonda 2011, Rolonda 2012, Karmen 2012 a Honnonmaki Rot. U ostatních odrůd je Studentův *t* koeficient větší než jeho tabelovaná kritická hodnota, a proto tyto výsledky nejsou statisticky správné. To však nemusí nutně znamenat, že jsou špatně stanoveny. Je nutno počítat s biologickou diverzitou danou odlišnými vlivy při pěstování zmíněnými v kapitole 2.1.4.

## 4.2 Refraktometrické stanovení sušiny

Byly vytvořeny 3 vzorky od každé odrůdy, které byly proměřeny na refraktometru před a po filtraci přes filtrační papír o hustotě K0. Všechny výsledky byly zaznamenány s přesností na 4 desetinná místa a poté byly otestovány na shodnost pomocí Lordova u-testu, tedy rovnice (2).

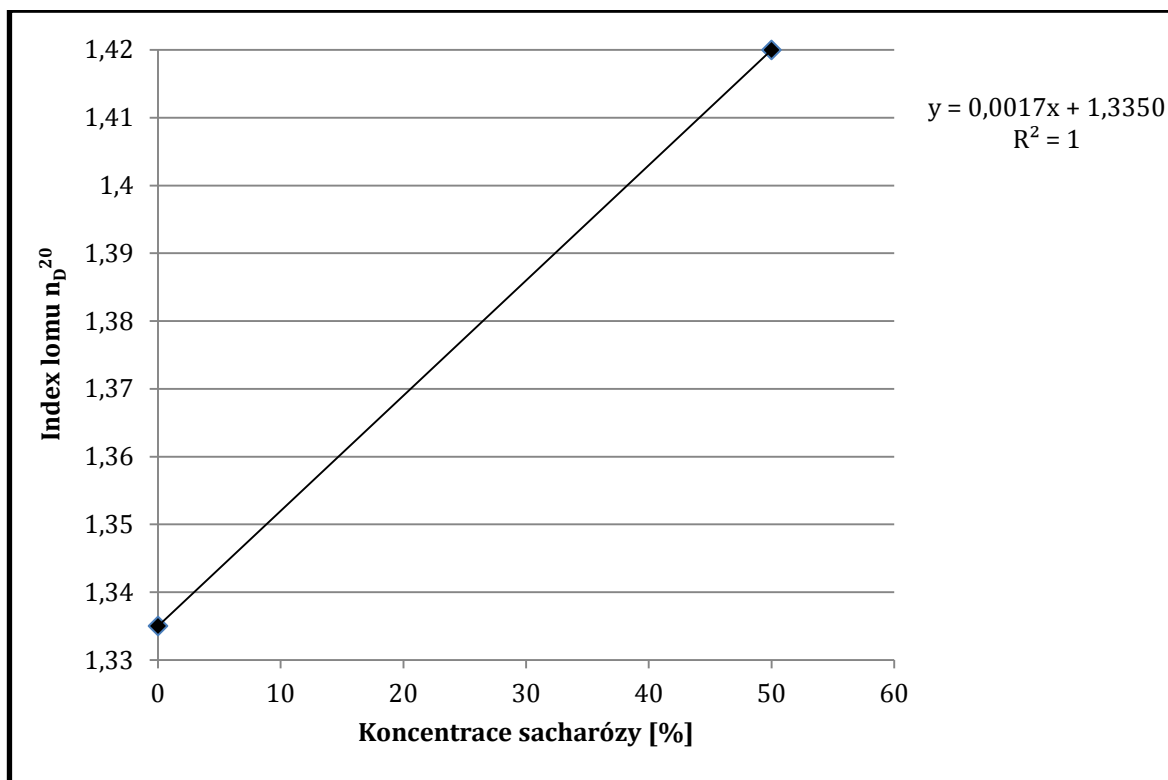
Hodnoty testu  $u$  byly porovnány s kritickou hodnotou Lordova rozdělení. Byla zvolena přísnější hladina statistické významnosti (0,05), počet měření je roven 3. Referenční hodnota je tedy 0,636. V Tab. 8 je vidět, že všechny hodnoty Lordova kritéria  $u$  jsou menší, a proto lze říci, že rozdíl mezi souborem výsledků bez filtrace a souborem výsledků s filtrací je statisticky nevýznamný na statistické hladině významnosti 0,05 a oba dva soubory jsou shodné.

Tab. 8. Naměřené hodnoty indexu lomu vypočteného Lordova  $u$  testu.

Odrůda	Průměrná hodnota $n_D^{25}$ (bez filtrace)	Průměrná hodnota $n_D^{25}$ (s filtrací)	Lordův test $u$
Captivator 2011	1,3514	1,3516	0,02
Captivator 2012	1,3565	1,3566	0,00
Hinnonmaki Rot	1,3539	1,3539	0,01
Invicta 2011	1,3483	1,3483	0,00
Invicta 2012	1,3556	1,3556	0,02
Karmen	1,3609	1,3610	0,02
Rolonda 2011	1,3527	1,3521	0,17
Rolonda 2012	1,3609	1,3611	0,04
Spine Free	1,3611	1,3609	0,02

Po tomto zjištění bylo provedeno rozhodnutí stanovit průměrný obsah sacharózy z prvního souboru výsledků (bez filtrace), který lépe odpovídá stavu v surových plodech. Byla provedena korekce na teplotu, protože index lomu je veličina závislá na teplotě a tabelované hodnoty se vztahují ke 20 °C. Pro teplotní korelaci byl použit vzorec (3).

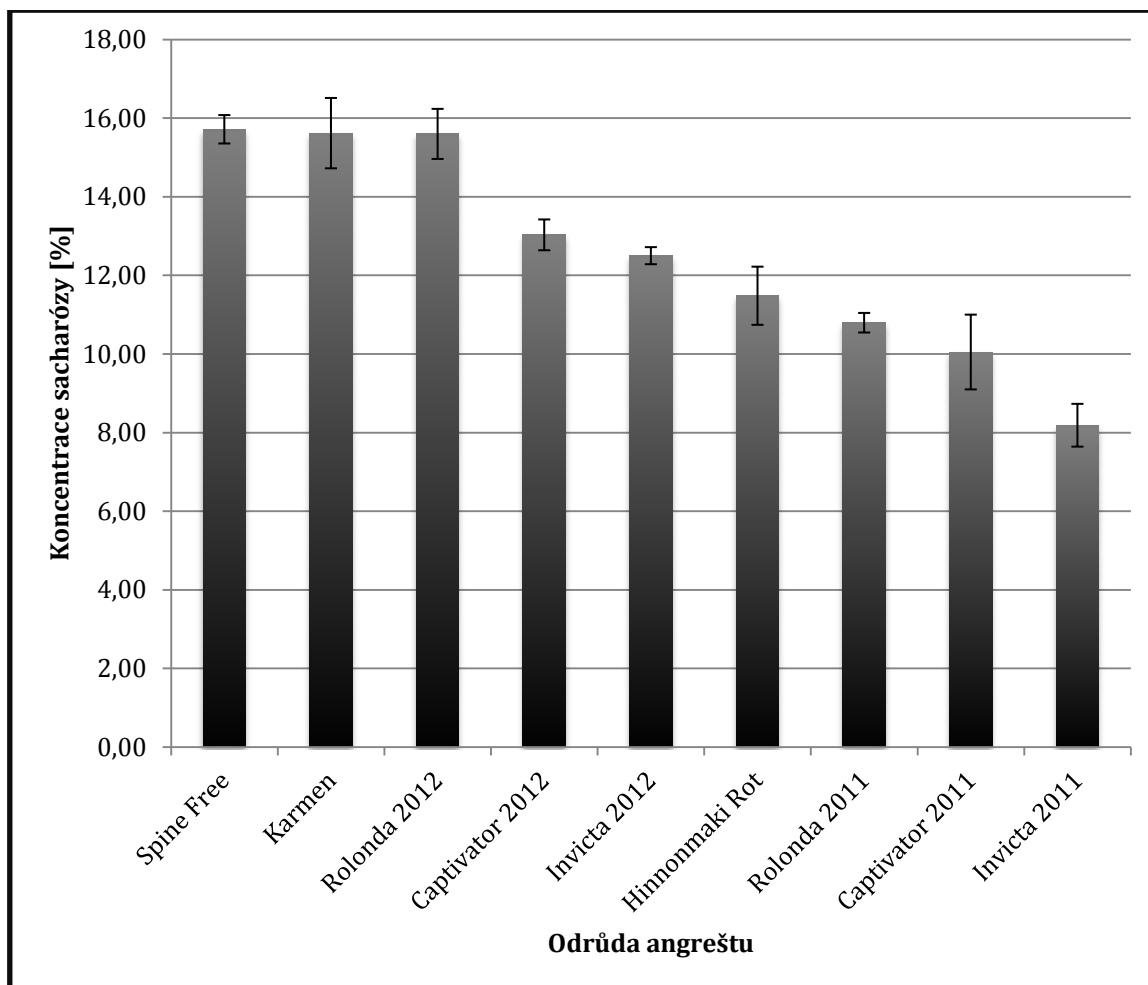
Velikost indexu lomu je přímo úměrná hmotnostní koncentraci sacharózy v roztoku. Hmotnostní obsah sacharózy v plodech angreštu byl vypočítán z rovnice přímky Grafu 2, vytvořeného podle [63].



Graf 2. Závislost indexu lomu a koncentrace sacharózy.

Tab. 9. Vypočtené hodnoty obsahu sacharózy v nových odrůdách angreštu.

Odrůda	Průměrná hodnota $n_D^{25}$ (bez filtrace)	Průměrná hodnota $n_D^{20}$	Obsah sacharózy [%]
Captivator 2011	1,3514	1,3521	10,05 ± 0,95
Captivator 2012	1,3565	1,3572	13,03 ± 0,39
Hinnonmaki Rot	1,3539	1,3545	11,48 ± 0,74
Invicta 2011	1,3483	1,3489	8,19 ± 0,54
Invicta 2012	1,3556	1,3563	12,50 ± 0,22
Karmen	1,3609	1,3616	15,62 ± 0,89
Rolonda 2011	1,3527	1,3534	10,79 ± 0,25
Rolonda 2012	1,3609	1,3615	15,60 ± 0,64
Spine Free	1,3611	1,3617	15,72 ± 0,36



Graf 3. Obsah sacharózy v nových odrůdách angreštu.

Obsah sacharózy se v nových odrůdách angreštu pohybuje v rozmezí  $15,72 \pm 0,36$  (Spine Free) až  $8,19 \pm 0,54$  (Invicta 2011). Deklarovaný obsah sacharidů v angreštu je uváděn jako 10,6 % [18]. Obsah sacharózy poté zhruba jako 3,6 % (nebo také  $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , obsah glukózy a fruktózy byl přibližně stejný a roven podle diverzity plodů cca 3,2 %. Glukóza, fruktóza a sacharóza jsou majoritními sacharidy v plodech angreštu, a proto není divu, že součet jejich hmotnostních procent je téměř roven celkovému obsahu sacharidů v plodech angreštu [65]. Protože glukóza má podobný index lomu jako sacharóza ( $1,3479$  pro 10% roztok [66]) a u fruktózy lze očekávat podobné hodnoty indexu lomu, lze konstatovat, že při refraktometrickém stanovení sušiny byl poměrně přesně změřen celkový obsah sacharidů. Ten je navíc podle [65] přímo úměrný zralosti plodů, což souhlasí s tím, že v popředí stojí Spine Free a Rolonda 2012, sklizené o týden později než ostatní odrůdy z roku 2012. S nejvyšší pravděpodobností byl do hodnot indexu lomu zahrnut i obsah pektinů a dalších rozpustných složek plodů. Nerozpustná sušina by v tomto stanovení být zahrnuta neměla, protože po centrifugaci vytvořila pelety pod supernatantem, jehož index lomu byl měřen.

### 4.3 Stanovení anthokyanů pH diferenciální metodou

Byla proměřena absorbance připravených roztoků s přesností na 3 desetinná místa při vlnových délkách 510 a 700 nm. Z nich byla vypočtena absorbance zředěného roztoku podle vzorce (4) a tato hodnota posloužila k výpočtu koncentrace celkových monomerních anthokyanů [ $\text{mg.l}^{-1}$ ] podle (5). Koncentrace byla vypočtena pro dominantní anthokyan plodů angreštu, kyanidin-3-glukosid. V literatuře byla dohledána jeho molární hmotnost  $M$  ( $449,2 \text{ g.mol}^{-1}$ ) a hodnota molárního extinkčního koeficientu  $\varepsilon$  ( $26\,900 \text{ cm}^{-1}.\text{mol}^{-1}.\text{l}$ ). Koncentrace byla na základě známosti navážky plodů ( $4,0 \text{ g}$  s přesností na 4 desetinná místa) a objemu roztoku ( $3 \text{ ml}$ ) přepočtena na koncentraci anthokyanů v  $\text{mg}$  na  $100 \text{ g}$  váhy čerstvých plodů. Naměřené hodnoty a jsou pro demonstraci uvedeny u odrůdy Hinnonmaki Rot, jehož navážka byla  $4,0001 \text{ g}$ .

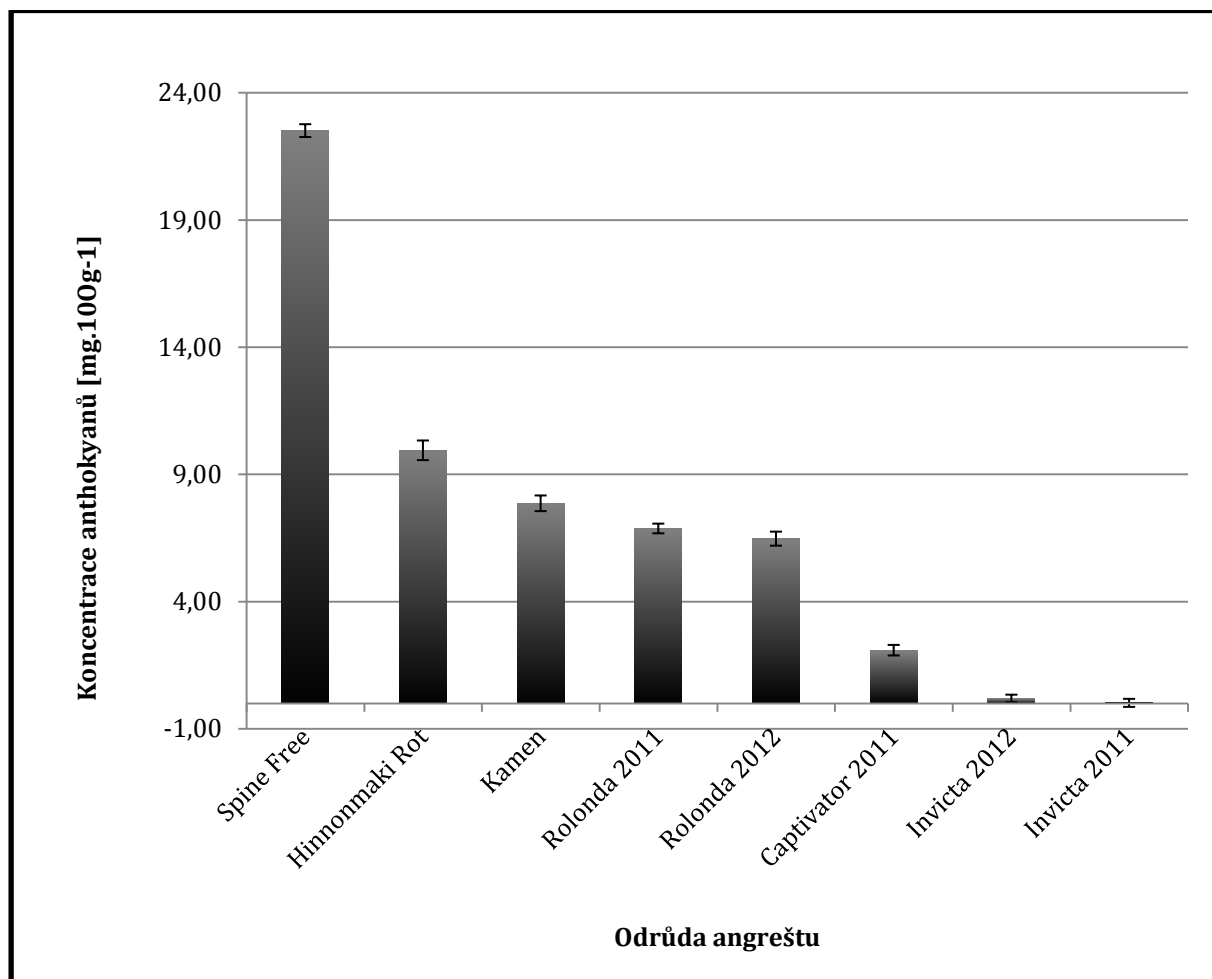
Tab. 10. Detailnější ukázka naměřených hodnot pro Hinnonmaki Rot.

Číslo vzorku	Absorbance při $\lambda = 510 \text{ nm}$		Absorbance při $\lambda = 700 \text{ nm}$		Absorbance A	Koncentrace anthokyanů [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	Koncentrace anthokyanů [ $\text{mg.100g}^{-1}$ ]
	pH = 4,5	pH = 1	pH = 4,5	pH = 1			
1	0,209	0,804	0,804	0,099	0,250	125,242	9,393
	0,206	0,807	0,807	0,097	0,254	127,246	9,543
	0,216	0,812	0,812	0,099	0,252	126,244	9,468
2	0,229	0,834	0,834	0,098	0,256	128,247	9,619
	0,222	0,828	0,828	0,099	0,259	129,750	9,731
	0,218	0,824	0,824	0,098	0,252	126,244	9,468
3	0,212	0,828	0,828	0,101	0,288	144,278	10,821
	0,219	0,834	0,834	0,104	0,284	142,274	10,671
	0,213	0,834	0,834	0,102	0,288	144,278	10,821

Dále jsou již uvedeny pouze průměrné hodnoty absorbance a průměrné koncentrace i s intervalem spolehlivosti. Jak ve formě tabulky, tak ve formě sloupcového grafu.

Tab. 11. Naměřené hodnoty absorbance a vypočtené hodnoty koncentrace anthokyanů v nových odrůdách angreštů.

Odrůda	Průměrná hodnota absorbance A	Koncentrace anthokyanů [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	Koncentrace anthokyanů [ $\text{mg.100g}^{-1}$ ]
Captivator 2011	0,056	$27,89 \pm 2,76$	$2,09 \pm 0,21$
Hinnonmaki Rot	0,265	$132,65 \pm 5,14$	$9,95 \pm 0,39$
Invicta 2011	0,001	$0,28 \pm 2,11$	$0,02 \pm 0,16$
Invicta 2012	0,005	$2,62 \pm 1,64$	$0,20 \pm 0,15$
Karmen	0,209	$104,87 \pm 4,10$	$7,87 \pm 0,31$
Rolonda 2011	0,183	$91,67 \pm 2,55$	$6,88 \pm 0,19$
Rolonda 2012	0,172	$86,33 \pm 3,67$	$6,47 \pm 0,28$
Spine Free	0,599	$300,19 \pm 3,35$	$22,51 \pm 0,25$

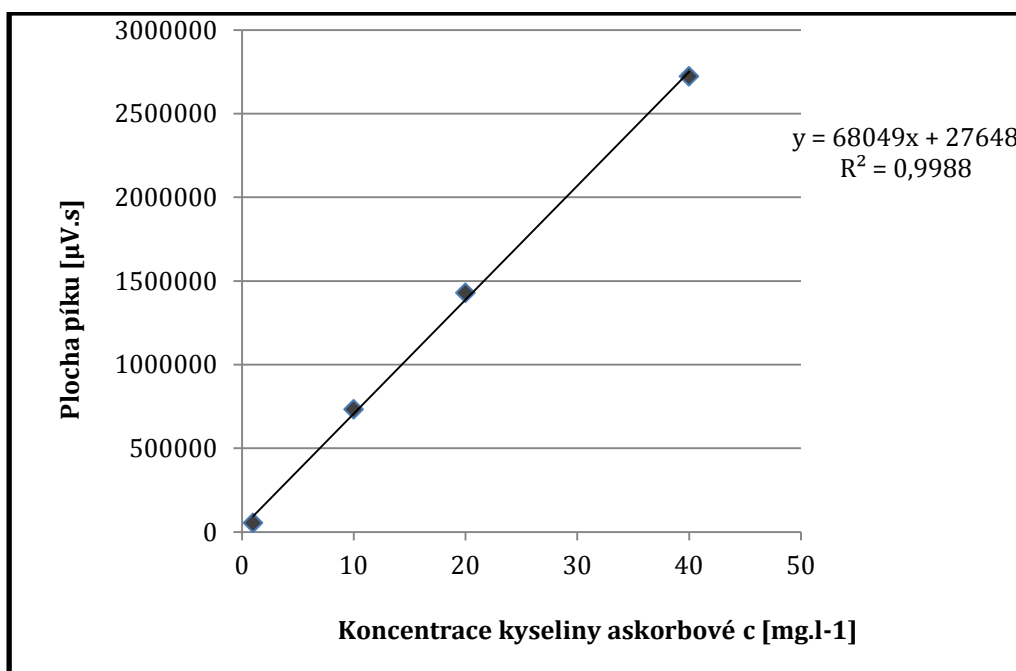


Graf 4. Obsah anthokyanů v nových odrůdách angreštu.

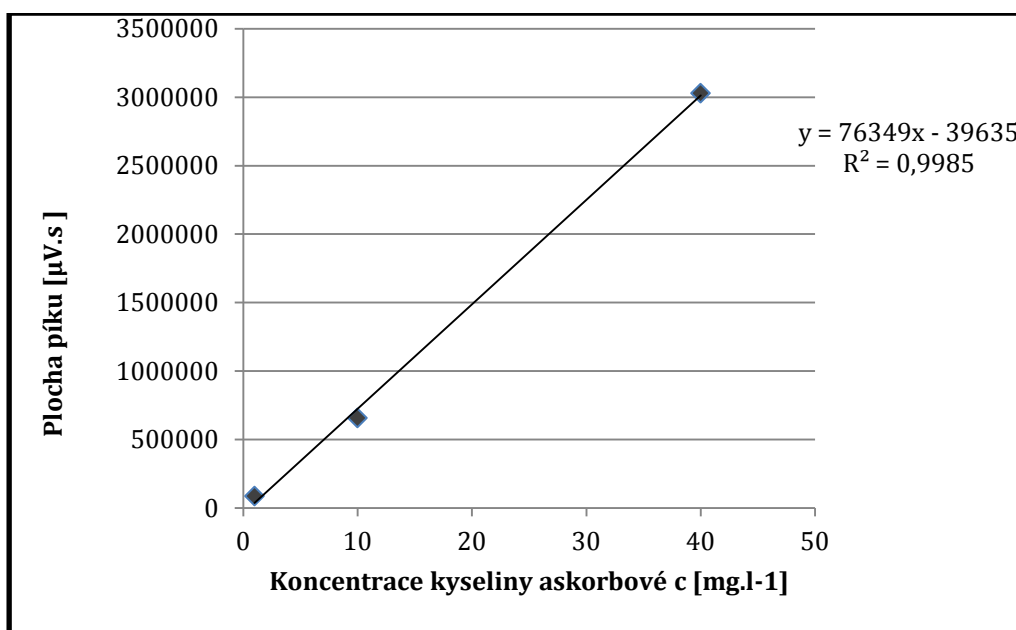
Největší obsah anthokyanů má Spine Free ( $22,51 \pm 0,25 \text{ mg.100g}^{-1}$ ), nejmenší naopak vykazuje běloplodá Invicta ( $0,02 \pm 0,16$  a  $0,20 \pm 0,15 \text{ mg.100g}^{-1}$ ), což však nepřekvapuje. Protože anthokyaniny dodávají květům a plodům červené, fialové a modré zbarvení, neměly by zde být naměřeny v podstatě žádné a to se i potvrdilo. Odpovídá to i závěrům z literatury, kdy bylo v zelenoplodé odrůdě Careless naměřeno  $0,074 \text{ mg}$  anthokyanů na  $100 \text{ g}$  váhy čerstvých plodů [35]. Žluto až červenoplodé odrůdy již obsahují anthokyanů více, například Spine Free se obsahem anthokyanů blíží odrůdě Rosko, která má  $22,44 \text{ mg.100g}^{-1}$  [38]. Šťáva Spine Free byla zřetelně tmavší než všech ostatních kultivarů a je zřejmé, že rozdíl v barevnosti byl způsoben vyšším obsahem anthokyanů. Je pravděpodobné, že metodou HPLC by byl naměřen vyšší obsah anthokyanů, protože při analýze pH diferenciální metodou byl výpočet vztáhnut pouze na majoritní anthokyan kyanidin-3-glukosid, který však v plodech angreštu rozhodně není jediný obsažený.

#### 4.4 Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC

S každou nově namíchanou mobilní fází byla sestrojena i nově i kalibrační přímka. První z nich byla použita pouze pro zkušební vzorky a optimalizaci metody, samotné vzorky byly analyzovány a jejich koncentrace vypočtena až z druhé kalibrační přímky, respektive její rovnice. Závislost je ve sledovaném rozsahu lineární a vysoká hodnota  $R^2$  (nad 0,99) zajišťuje dobrou linearitu.



Graf 5. Kalibrační přímka 1.

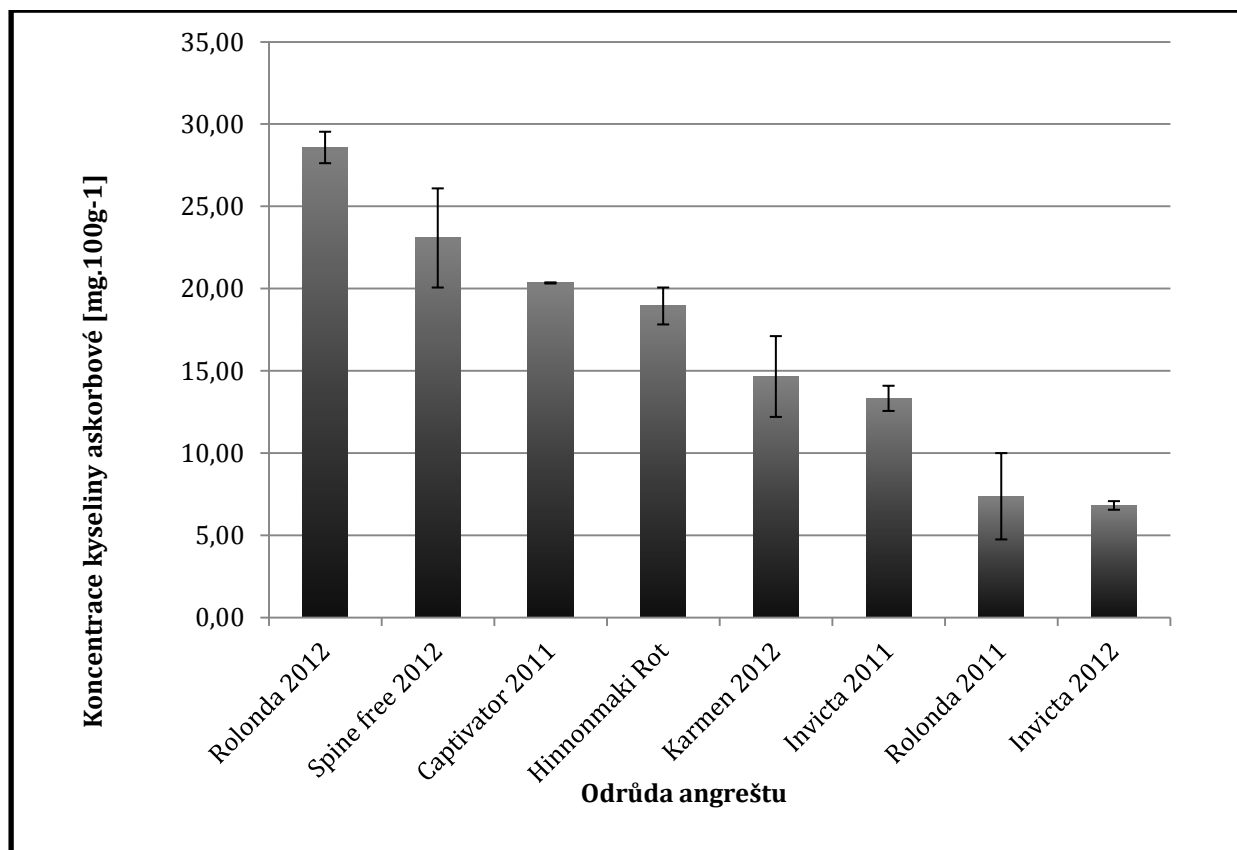


Graf 6. Kalibrační přímka 2.

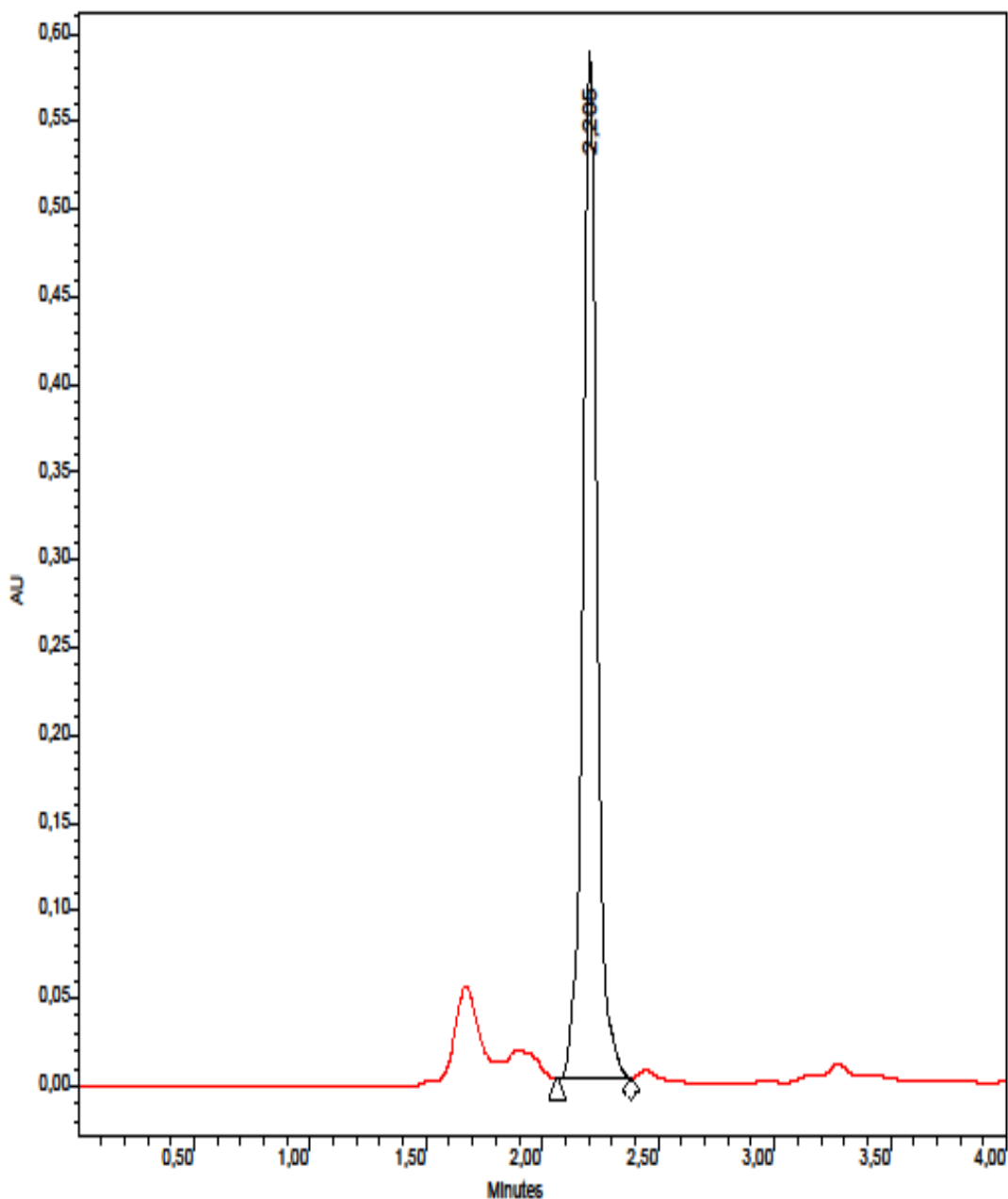
Plochy píků odpovídající kyselině askorbové byly zintegrovány programem Breeze. Z plochy píků byla pomocí rovnice kalibrační přímky vypočtena koncentrace kyseliny askorbové v analyzovaných vzorcích o jednotce  $\text{mg.l}^{-1}$ . Naprosto analogickým postupem jako u obsahu anthokyanů byla vypočtena koncentrace kyseliny askorbové na 100 g živých plodů (vzorek byl ředěn do 25 ml odměrné baňky a hodnota navážky plodů je vždy 4,0 g s přesností na 4 desetinná místa).

Tab. 12. Naměřené plochy píků a vypočtené hodnoty koncentrace kyseliny askorbové v nových odrůdách angreštu.

Odrůda	Průměrná plocha píku [ $\mu\text{V.s}$ ]	Koncentrace kyseliny askorbové [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	Koncentrace kyseliny askorbové [ $\text{mg.100g}^{-1}$ ]
Captivator 2011	2446303,67	$32,56 \pm 1,53$	$20,35 \pm 0,96$
Hinnonmaki Rot	2275116,83	$30,32 \pm 4,82$	$18,95 \pm 3,01$
Invicta 2011	1479280,17	$21,33 \pm 0,06$	$13,33 \pm 0,03$
Invicta 2012	793563,83	$10,91 \pm 1,80$	$6,82 \pm 1,12$
Karmen	1751211,83	$23,46 \pm 3,93$	$14,66 \pm 2,46$
Rolonda 2011	861701,17	$11,81 \pm 1,23$	$7,38 \pm 0,77$
Rolonda 2012	3452621,83	$45,74 \pm 4,20$	$28,59 \pm 2,63$
Spine Free	2780485,00	$36,94 \pm 0,42$	$23,09 \pm 0,26$



Graf 7. Obsah kyseliny askorbové v nových odrůdách angreštu.



Obr. 25. Ukázka chromatogramu stanovení vitamínu C (odrůda Captivator 2011).

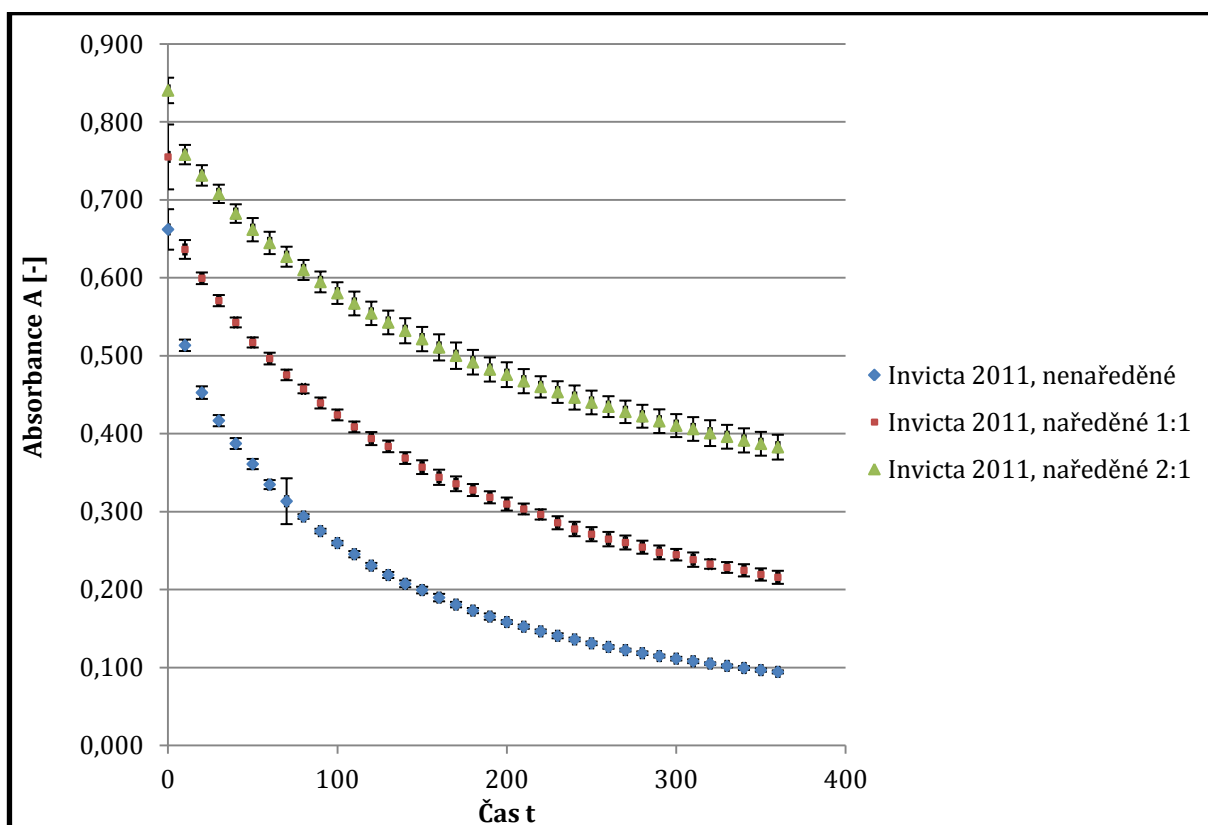
Nejvyšší obsah vitamínu C mají Rolonda a Spine Free z roku 2012 ( $28,59 \pm 2,63$  a  $23,09 \pm 0,26$   $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), nejmenší naopak Invicta z téhož roku ( $6,82 \pm 1,12$   $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) a Rolonda sklizená roku 2011 ( $7,38 \pm 0,77$   $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Obsah deklarovaný literaturou se v plodech angreštu pohybuje od 20 do 50  $\text{mg}$  na 100  $\text{g}$  váhy živých plodů, viz Tab. 6. Nelze si nevšimnout, že v tomto i dalších stanoveních stojí v popředí Rolonda 2012 a Spine Free. Obě odrůdy pocházejí ze stejného stanoviště, kde byly zřejmě optimální pěstitelské podmínky (sluneční svit, teplota, zvláha a výživa), které ostatní odrůdy možná nedostaly. Navíc byly sklizeny o týden později. Protože jsou všechny hodnoty nižší než je uváděný obsah, je možno

uvažovat o systematické chybě při měření způsobené špatnou optimalizací metody. Toto tvrzení by však bylo potřeba dále prozkoumat, a protože byl danou metodou dlouhodobě měřen obsah vitamínu C i v dalších odrůdách drobného ovoce, zdá se tato varianta nepravděpodobná.

#### 4.5 Stanovení antioxidační kapacity pomocí DPPH

Vzhledem k spektrofotometrickému stanovení byla k měření antioxidační aktivity vybrána odrůda Invicta, jediná zelenoplodá odrůda z dostupných vzorků. Jako taková má méně antioxidantů v porovnání s barevnými odrůdami, avšak nedochází ke zkreslení hodnoty absorbance obsaženými barvivy.

Byla proměřena absorbance všech tří vzorků (od každého třikrát). Roztok angreštu byl pipetován buď v objemu 1,5 ml (neřaděný vzorek), nebo 750  $\mu$ l při přidání stejného množství methanolu (dvakrát nařaděný vzorek), nebo v objemu 500  $\mu$ l spolu s 1 ml methanolu (třikrát nařaděný vzorek).

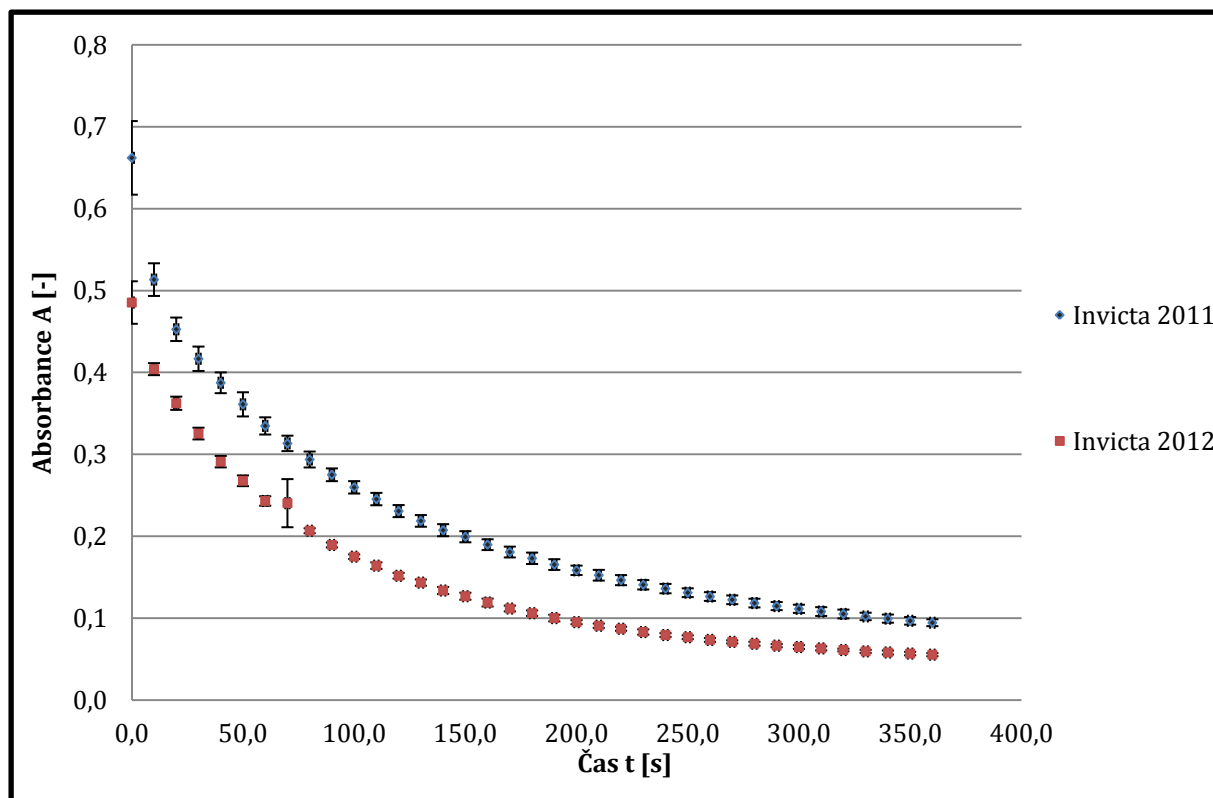


Graf 8. Vliv odlišného ředění vzorku na pokles hodnot absorbance s časem.

Všechna tři ředění vykazují stejný klesající trend, jen absorbance je vždy s rostoucím ředěním posunuta k větším hodnotám, protože DPPH měl k dispozici méně antioxidantů, s nimiž mohl reagovat, a zůstával tedy v roztoku více ve své radikálové, fialové formě. Nejzajímavější trend vykazuje nenařaděný vzorek, u něhož se stechiometrie reakce viditelně blíží dvěma. Nadále proto byly proměřovány nenařaděné vzorky a z jejich absorbancí byla rovněž stanovena zhášecí aktivita DPPH<sup>•</sup>.

Tab. 13. Naměřené hodnoty absorbancí nenařaděných vzorků Invicty 2011 a Invicty 2012.

Čas t [s]	Absorbance Invicty 2011	Absorbance Invicty 2012	Čas t [s]	Absorbance Invicty 2011	Absorbance Invicty 2012
0	0,662 ± 0,051	0,485 ± 0,026	190	0,165 ± 0,007	0,100 ± 0,004
10	0,513 ± 0,023	0,404 ± 0,007	200	0,158 ± 0,006	0,095 ± 0,002
20	0,453 ± 0,016	0,362 ± 0,008	210	0,152 ± 0,007	0,091 ± 0,003
30	0,417 ± 0,017	0,325 ± 0,007	220	0,146 ± 0,007	0,087 ± 0,002
40	0,387 ± 0,014	0,291 ± 0,007	230	0,141 ± 0,006	0,083 ± 0,003
50	0,361 ± 0,017	0,268 ± 0,007	240	0,136 ± 0,006	0,079 ± 0,002
60	0,335 ± 0,012	0,243 ± 0,006	250	0,131 ± 0,006	0,077 ± 0,002
70	0,313 ± 0,011	0,240 ± 0,029	260	0,126 ± 0,006	0,073 ± 0,002
80	0,294 ± 0,011	0,207 ± 0,003	270	0,122 ± 0,006	0,071 ± 0,002
90	0,275 ± 0,009	0,189 ± 0,003	280	0,118 ± 0,006	0,069 ± 0,002
100	0,260 ± 0,009	0,175 ± 0,003	290	0,115 ± 0,006	0,066 ± 0,002
110	0,245 ± 0,009	0,164 ± 0,004	300	0,111 ± 0,006	0,065 ± 0,002
120	0,231 ± 0,008	0,152 ± 0,003	310	0,108 ± 0,006	0,063 ± 0,002
130	0,219 ± 0,008	0,143 ± 0,004	320	0,105 ± 0,006	0,061 ± 0,002
140	0,207 ± 0,008	0,134 ± 0,004	330	0,102 ± 0,005	0,059 ± 0,002
150	0,199 ± 0,008	0,127 ± 0,004	340	0,099 ± 0,006	0,058 ± 0,002
160	0,190 ± 0,007	0,119 ± 0,005	350	0,097 ± 0,005	0,057 ± 0,002
170	0,181 ± 0,007	0,112 ± 0,003	360	0,094 ± 0,005	0,055 ± 0,002
180	0,173 ± 0,008	0,106 ± 0,003			



Graf 9. Pokles absorpce měřených vzorků v závislosti na čase.

Průběh bodů v Grafu 9 se blíží průběhu exponenciály. Průběh elementárních reakcí je neznámý, protože DPPH reaguje s antioxidantem, což by měla být reakce druhého řádu. Exponenciální průběh však poukazuje na reakci prvního řádu, kdy se reaktant sám, bez účasti další molekuly reaktantu, přeměňuje na produkt podle schématu  $A \rightarrow P$ , kde A znamená reaktant a P produkt.

Pro výpočet zhášecí aktivity DPPH podle vzorce (6) byla použit čas odpovídající střední hodnotě absorbance vyčtené z grafu. Ta má v případě Invicty 2011 hodnotu 0,2838 a v případě Invicty 2012 je rovna 0,2150. Obě hodnoty odpovídají času 80 s. Za  $A_1$  ve vzorci byla proto dosazena absorbance v čase 80 s,  $A_{80}$ . V tabulce jsou vypočtené hodnoty uvedené spolu s intervalem spolehlivosti.

Tab. 14. Vypočtená zhášecí aktivita.

Odůrda	Absorbance $A_0$	Průměrná $A_{80}$	Průměrná zhášecí aktivita [%]
Invicta 2011	0,933	$0,29 \pm 0,01$	$68,52 \pm 1,18$
Invicta 2012	0,875	$0,21 \pm 0,01$	$76,38 \pm 0,34$

Zhášecí aktivita plodů Invicty 2012 je zhruba o 8 % vyšší než Invicty 2011. To nepřekvapuje, Invicta 2011 vykazovala v porovnání s ostatními odrůdami nejmenší množství téměř všech parametrů, ať už rozpustné sušiny, nebo vitamínu C a anthokyanů, což se vše muselo zákonitě odrazit v hodnotě její celkové antioxidační aktivity.

## 5. ZÁVĚR

---

Angrešt srstka, nejčastěji uváděný jako *Ribes grossularia* či *Grossularia uva-crispa*, je bobulovina, která má v českých zemích mnoho set let dlouhou tradici. Převážná většina odrůd pochází buď z území bývalého Československa, nebo z Velké Británie, případně Německa. Dokonce i podle zahraničních zdrojů patří Česká republika k celosvětově nejvýznamnějším pěstitelům angreštu. Angrešt je pro naši zemi něčím charakteristickým, podobně jako české sklo, pivo nebo kostka cukru, jen to není známo mezi širší veřejností. Všeobecná obliba angreštu je nízká i přes bohatý nutriční charakter. Mezi ostatním ovocem je angrešt jedinečný vysokým obsahem pektinu (především nedozrálý), vitamínů B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>9</sub>, C a H a vyváženým poměrem minerálií obsahujících Ca, Na, Mg, P a K, které v této skladbě podporují správnou funkci kosterní a z části i svalové a nervové soustavy. Lze ho tedy doporučit sportovcům, rostoucím dětem, těhotným ženám a ženám po menopauze. Červené, vyzrálé plody angreštu jsou účinné antioxidanty.

K analýze nutričních parametrů byla vybrána hmotnostní sušina, refraktometrická sušina, obsah vitamínu C, anthokyanů a antioxidační kapacity. Hmotnostní sušiny, tedy obsahu rozpustných i nerozpustných látek, měla nejvíce odrůda Rolonda 2012 ( $16,15 \pm 0,66 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) v těsném závěsu Spine Free ( $16,08 \pm 0,91 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), nejmenší obsah vykazovala Invicta 2011 ( $10,31 \pm 0,33 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Tabelovaná hodnota hmotnostní sušiny je  $14,4 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ , která se nejspíš vztahuje k průměrně vyzrálému ovoci. Obsah sacharózy stanovený na základě hodnoty indexu lomu byl opět nejvyšší u Spine Free ( $15,72 \pm 0,36 \%$ ), nejnižší u Invicty 2011 ( $8,19 \pm 0,54 \%$ ). Jak bylo zmíněno v diskusi, tato hodnota zřejmě udává celkové množství nejen sacharózy, ale i dalších sacharidů a rozpustné sušiny celkově. Obsah anthokyanů koreluje se stanoveními popsány v literatuře, nejvíce je na kyanidin-3-glukosid bohatý opět Spine Free ( $22,51 \pm 0,25 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), nejméně Invicta 2011 ( $0,02 \pm 0,16$ ), což nepřekvapuje, protože Invicta je zelenoplodá odrůda, která by neměla mít anthokyaniny v podstatě žádné, supernatant Spine Free byl zase zbarven zřetelněji než u ostatních odrůd. Co do obsahu vitamínu C stojí v popředí Rolonda 2012 ( $28,59 \pm 2,63 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) následovaná odrůdou Spine Free ( $23,09 \pm 0,26 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Tyto hodnoty odpovídají obsahu deklarovanému v literatuře. Obsahově nejchudší je Invicta 2012 ( $6,82 \pm 1,12 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ). Zhášecí aktivita plodů Invicty z roku 2012 je  $76,38 \pm 0,34 \%$ , Invicty 2011  $68,52 \pm 1,18 \%$ .

Souhrnně lze s ohledem na stanovená měření doporučit konzumaci dobře vyzrálých plodů (Rolonda 2012 a Spine Free byly sklizeny o týden později, než zbytek odrůd z téhož roku), protože rozdíl v obsahu v podstatě všech stanovovaných výživově prospěšných látek byl skutečně zřejmý. Je tak lidskému tělu dodána lepší výživa s vynaložením stejné práce (sklizeň vlastních plodin) nebo peněz (nákup ovoce).

Zároveň je dobré pamatovat na včasnou konzumaci zamraženého ovoce, protože sklizeň z roku 2011, ačkoli pocházela ze stejného stanoviště jako nutričně nejbohatší odrůdy, všeobecně zaostávala za ročníkem 2012.

Bylo by velice zajímavé udělat senzorickou analýzu dostupných plodů a porovnat její výstupy se závěry chemické analýzy. Jistě stojí za zvážení, zda v následujících letech nezařadit senzorické hodnocení plodů angreštu mezi předměty výzkumu.

Závěrem lze vyslovit tvrzení, že angrešt je „český poklad“, který čeká na své znovuobjevení a zaplnění prázdného místa na trhu. Uvedené poznatky mají možný komerční potenciál v oblasti zdravé výživy a potravinových doplňků, obzvláště v současné době, kdy mezi spotřebiteli roste poptávka po lokálních a přirozeně pěstovaných produktech.

## 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

---

- [1] KUTINA, Josef. *Pomologický atlas*. 1. vyd. Praha: Brázda, 1992, 300 s. ISBN 80-209-0192- 2.
- [2] PLUTA, Stanislaw. New Challenges in the Ribes Breeding and Production. *Acta Hort.* 2012, 946, 27 - 35.
- [3] RYSTONOVÁ, Ida. *Byliny a jejich lidové názvy*. 1. vyd. Praha: Vodnář, 1996, 333 s. ISBN 80-85255-82-0.
- [4] LUŽA, Josef. *Malá pomologie*. 2. vyd. Praha: SZN, 1967, 384 s.
- [5] HRIČOVSKÝ, Ivan. *Rybíz, angrešt na zahrádce*. 2. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990, 52 s.
- [6] *Mathioliho herbář: poznání o bylinách staletími ověřená*. Havířov: Ogam, 1992, s. 74-96.
- [7] FALLOVO, Carlo et al. Leaf Area Estimation Model for Small Fruits from Linear Measurement. *HortScience*. 2008, 43(7), 2263 - 2267.
- [8] MAGE, Finn. A Comparison of Seven Gooseberry Cultivars with Respect to Yield Components and Fruit Quality. *Acta Hort.* 2002, 585, 481 - 487.
- [9] DUŠKOVÁ, Ludmila a Jan KOPŘIVA. *Pěstujeme rybíz, angrešt a jostu*. 1. vyd. Praha: Grada, 2002, 112 s., [6] s. obr. příl. ISBN 80-247-0223-1.
- [10] RICHTER, Miloslav. *Malý obrazový atlas odrůd ovoce*. Vyd. 1. Lanškroun: TG Tisk, c2004, 85 s. ISBN 80-903487-6-9.
- [11] *Ribes uva-crispa L. var. sativum DC. European gooseberry*. United States Department of Agriculture: Natural Resources Conservation Service [online]. 2000 [cit. 2013-04-24]. Dostupné z: <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=RIUVS>
- [12] *Klimatické poměry České republiky. FYZICKÁ GEOGRAFIE ČESKÉ REPUBLIKY* [online]. 2010 [cit. 2013-04-29]. Dostupné z: [http://www.herber.kvalitne.cz/FG\\_CR/klima.html](http://www.herber.kvalitne.cz/FG_CR/klima.html)
- [13] PICTON, Deric D. a Kim E. HUMMER. Control of Powdery Mildew on Leaves and Stems of Gooseberry. *HorTechnology*. 2003, 13(2), 365 – 367.
- [14] *Interaktivní databáze chorob a škůdců ovocných plodin: Rez vejmutovková*. NEČAS, T. a B. KRŠKA. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita: Zahradnická fakulta [online]. 2006 [cit. 2013-04-24]. Dostupné z: [http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav\\_551/aplikace/soubory/rez\\_vejmut.pdf](http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav_551/aplikace/soubory/rez_vejmut.pdf)
- [15] *Americké padlí angreštové*. *Agromanuál: Vše o přípravcích na ochranu rostlin* [online]. 2003 [cit. 2013-04-24]. Dostupné z: <http://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/americke-padli-angrestove.html>

- [16] Agrest (*Ribes uva-crispa*), Hinnonmaki Rot'. Encyklopedia Roślin: Rośliny ogrodowe i kwiaty doniczkowe [online]. 2009 [cit. 2013-04-24]. Dostupné z: <http://kwiaty-ogrody.pl/?p=5886>
- [17] OVOCNÉ STROMKY: ANGREŠT, RYBÍZ, JOSTA. Ovocná a okrasná školka Strážnice [online]. 2011 [cit. 2013-04-24]. Dostupné z: <http://www.ovocnaskolka.cz/ovocnestromky/eshop/1-1-OVOCNE-STROMKY/9-2-ANGREST-RYBIZ-JOSTA>
- [18] KOPEC, Karel. *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. Vyd. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998, 72 s. ISBN 80-86153-64-9.
- [19] JÍLEK, Jan. *Učebnice zavařování & konzervace: (i pro diabetiky) : [jak uchovávat potraviny]*. Olomouc: Fontána, 2001, 232 s., [4] s. obr. příl. ISBN 80-86179-67-2.
- [20] FENNEMA, O. R. et al.: *Food Chemistry*, third edition. Marcel Dekker, Inc. USA. 1996. ISBN 0-8247-9691-8.
- [21] PŮHONÝ, Karel. *Konzervace a ukládání potravin v domácnosti*. 7., upr. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990, 319 s.
- [22] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002, xii, 331 s. ISBN 80-86659-00-3.
- [23] Uherová, R.: *Čo vieme o vitamínoch dnes*. Vydavateľstvo MALÉ CENTRUM, 2002, 143 s. ISBN 80-968737-0-9.
- [24] HRABĚ, Jan, František BUŇKA a Ignác HOZA. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: pro kombinované studium*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007, 189 s. ISBN 978-80-7318-520-6.
- [25] DRDÁK, M, J. STUDNICKÝ, E. MÓROVÁ a J. KAROVIČOVÁ. *Základy potravinářských technologií*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 1996, 511 s. ISBN 80-967-0641-1.
- [26] PEŠEK, Milan. *Potravinářské zbožíznalství*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2000, 175 s. ISBN 80-7040-399-3.
- [27] JORDNEIM, Monica, Finn MAGE a Oyvind M. ANDERSEN. Anthocyanins in Berries of Ribes Including Gooseberry Cultivars with a High Content of Acylated Pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, č. 55, 5529 - 5535.
- [28] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002, xii, 343 s. ISBN 80-86659-02-x.
- [29] BELITZ, H, W GROSCH a Peter SCHIEBERLE. *Food chemistry*. 4th rev. and extended ed. Berlin: Springer, c2009, xlv, 1070 p. ISBN 978-3-540-69933-0.
- [30] POTÁČEK, Milan. *Organická chemie pro biology*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 1995, 208 s. ISBN 80-210-1125-4.
- [31] MULLENDER, U., M. MURKOVIC, W. PFANNHAUSER: Metabolism of Cyanidin Glycosides of Elderberry. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 421 - 425. ISBN 0-85404-806-5.

- [32] DEGENHARDT, A., P. WINTERHALTER: HSCCC – A Powerful Tool for the Preparative Isolation of Bioactive Compounds. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 141 - 146. ISBN 0-85404-806-5.
- [33] MC GHIE, T. K., G. D. AINGE: Bioabsorption and Excretion of Berryfruit Anthocyanins in Rats and Humans. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 416 - 420. ISBN 0-85404-806-5.
- [34] HINS, A., H. STOCKMANN, K. SCHWARZ: Designing „Anthocyanin-tailored“ Food Composition. *Biologically-active Phytochemicals in Food* The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 378 - 381. ISBN 0-85404-806-5.
- [35] KAHLKONEN, M. et al.: Antioxidant Activity of Berry Anthocyanins. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 357 - 359. ISBN 0-85-404-806-5.
- [36] LANDBO, A. K., A. S. MEYER: Enzymatic Enhancement and Antioxidant Activities of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds in Black Currant Juice. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 354 - 356. ISBN 0-85404-806-5.
- [37] BIANCHI, L. et al.: Anthocyanins Protect Against Oxidative Damage in Cell Cultures. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 311 - 318. ISBN 0-85404-806-5.
- [38] WU, Xianli, Liwei GU, Roland L. PRIOR a Steve MCKAY. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and Their Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, č. 52, 7846 - 7856.
- [39] KNUTHSEN, P., H. MA, T. LETH: Occurrence and Analysis of Anthocyanins in Foods and Seeds. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 206 – 208. ISBN 0-85404-806-5.
- [40] PANTELIDIS, G. E., M. VASILAKAKIS a G. A. MANGANARIS. Antioxidant Capacity, Phenol, Anthocyanin and Ascorbic Acid Contents in Raspberries, Blackberries, Red Currants, Gooseberries and Cornelian Cherries. *Food Chemistry*. 2007, č. 102, 777 - 783.
- [41] ROMANI, Aet al.: HPLC/DAD and Spektrometry Aanalysis for Polyphenol Determination in Must. *Biologically-active Phytochemicals in Food*. The Royal Society of Chemistry, 2001, p. 190 - 193. ISBN 0-85404-806-5.
- [42] WILCH, Cara R., Oingli WU a James E. SIMON. Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. *Curr. Anal. Chem.* 2008, 4(2), 75 - 101.
- [43] WROLSTAD, Ronald E., Robert W. DURST a Jungmin LEE. Tracking Color and Pigment Changes in Anthocyanin Products. *Food Science & Technology*. 2005, č. 16, 423 - 428.

- [44] GIUSTI, Monica M. a Ronald E. WROLSTAD. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001, F1.2.1. - F.1.2.13.
- [45] DENEV, Petko, Milan CIZ, Gabriela AMBROZOVA, Antonin LOJEK, Irina YANAKIEVA a Maria KRATCHANOVA. Solid-phase Extraction of Berries Anthocyanins and Evaluation of Their Antioxidative Properties. *Food Chemistry*. 2010, č. 123, 1055 - 1061.
- [46] ILLIAMS, Martin, Geza HRAZDINA a Marguerite m. WILKINSON. High-pressure Liquid Chromatographic Separation of 3-Glucosides, 3,5-Diglucosides, 3-(6-O-p-Coumaryl)glucosides and 3-(6-O-p-Coumarylglucoside)-5-glucosides of Anthocyanins. *Journal of Chromatography*. 1978, č. 155, 389 - 398.
- [47] DA COSTA, Cristina T., Derek HORTON a Sam A. MARGOLIS. Analysis of Anthocyanins in Foods by Liquid Chromatography, Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and Capillary Electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 2000, č. 881, 403 - 410.
- [48] VALLS, Josep, Silvia MILLAN, M. Pilar MARTI, Eva BORRAS a Lluís AROLA. Advanced Separation Methods of Food Anthocyanins, Isoflavones and Flavonols. *Journal of Chromatography A*. 2009, č. 1216, 7143 - 7172.
- [49] CASTENADA-OVANDO, Araceli, Elena PAEZ-HERNANDEZ, Jose A. RODRIGUEZ a Carlos Andres GALAN-VIDAL. Chemical Studies of Anthocyanins: A Review. *Food Chemistry*. 2009, č. 113, 859 - 871.
- [50] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002, xv, 303 s. ISBN 80-86659-01-1.
- [51] CHEBROLU, Kranthi K., G. K. JAYAPRAKASHA, Kil Sun YOO, John L. JIFON a Bhimanagouda S. PATIL. An Improved Sample Preparation Method for Quantification of Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid by HPLC. *LWT - Food Science and Technology*. 2012, č. 47, 443 - 449.
- [52] ARYA, S. P., M. MAHAJAN a P. JAIN. Non-spectrophotometric Methods for the Determination of Vitamin C. *Analytica Chimica Acta*. 2000, č. 417, 1 - 14.
- [53] BURINI, Giovanni. Development of a Quantitative Method for the Analysis of Total L-Ascorbic Acid in Foods by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2007, č. 1154, 97 - 102.
- [54] NOVÁKOVÁ, L., P. SOLICH a D. SOLICHOVÁ. HPLC Method for Simultaneous Determination of Ascorbic and Dehydroascorbic Acids. *Trends in Analytical Chemistry*. 2008, č. 10.

- [55] ROGINSKY, Vitaly a Eduardo A. LISSI. Review of Methods to Determine Chain-breaking Antioxidant Activity in Food. *Food Chemistry*. 2005, č. 92, 235 - 254.
- [56] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 2004, č. 98, 174 - 179.
- [57] BABBAR, Neha, Harinder Singh OBEROI, Dewinder Singh UPPAL a Ramabhau Tumadu PATIL. Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Extracts Obtained from Six Important Fruit Residues. *Food Research International*. 2011, č. 44, 391 - 396.
- [58] KARABÍN, Marcel, Pavel DOSTÁLEK a Pavel HOFTA. Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarství. *Chemické listy*. 2006, č. 100, 184 - 189.
- [59] WOODROW, Lorna, Margie LUFFMAN a Suzanne VAN DER LEEUW. Antioxidant Activity in Raspberry, Currant and Gooseberry Accessions of the Canadian Clonal Genebank. *Acta Hort*. 2007, č. 774, 439 - 442.
- [60] GORJANOVIC, Stanislava, Drazenka KOMES, Ferens T. PASTOR, Lato PEZO a Desanka SUZNJEVIC. Antioxidant Capacity of Teas and Herbal Infusions: Polarographic Assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, č. 60, 9573 - 9580.
- [61] Ing. Mgr. Libor Babák, Ph.D.: .Přednášky z předmětu Biostatistika MCO\_BST 12/13Z (121705). Vysoké učení technické v Brně: E-LEARNING VUT [online]. 2012 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/elearning/course/view.php?id=121705>
- [62] Multimediální učebnice "Příklady z analytické chemie": HODNOCENÍ ANALYTICKÝCH VÝSLEDKŮ. Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci: Katedra analytické chemie [online]. 2010 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/ucebnice/hodnoceni.htm>
- [63] Přednášky z předmětu Analýza potravin v kontrolní praxi: Ovoce a zelenina. Prof. Dr. Ing. Richard KOPLÍK: Ústav analýzy potravin a výživy [online]. 2012 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: [http://web.vscht.cz/koplikr/4\\_Ovoce\\_a\\_zelenina.pdf](http://web.vscht.cz/koplikr/4_Ovoce_a_zelenina.pdf)
- [64] MISHRA, Krishnanand, Himanshu OJHA a Nabo Kumar CHAUDHURY. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*. 2012, č. 130, 1036–1043.
- [65] FAMIANI, F., A. BALDICCHI, A. BATTISTELLI, S. MOSCATELLO a R. P. WALKER. Soluble Sugar and the Organic Acid Contents and the Occurance and Potential Role of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase (PEPCK) in Gooseberry (*Ribes grossularia L.*). *Journal of Horticulural Science & Biotechnology*. 2009, 89(3), 249 - 254.
- [66] D-glukóza. Datový standard MZ ČR - verze 4: Webové služby pro distribuci číselníků datového standardu, DTD a schemat [online]. 2004 [cit. 2013-04-30]. Dostupné z: [http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD\\_DS4/hypertext/AJCEH.htm](http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/AJCEH.htm)

## 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

---

ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
CCC	Countercurrent Chromatography
CE	Capillar Electrophoresis
CGE	Capillary Gel Electrophoresis
CITP	Capillary Isotachophoresis
CUPRAC	Cupric Reducing Antioxidant Capacity
CV	cyclic voltmetry
CZE	Capillary Zone Electrophoresis
DAD	Diode Array Detector
DCIP	2,6-Dichlorophenolindophenol
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ESI	Electrospray Ionization
FAB	Fast-atom Bombardement
FAD	Flavin Adenine Dinucleotide
FIA-ED	flow injection amperometric detection
FRAP	Rerric Reducing Antioxidant Power
FMN	Flavin Mononucleotide
HILIC	Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography
HPLC	High Performance (Pressure) Liquid Chromatography
HSCCC	High Speed Countercurrent Chromatography
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
MEKC	Micellar Electrokinetic Chromatography
MS	Mass Spectrometry
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
ODS	Octadecyl Silane
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PC	Paper Chromatography
ROS	Reactive Oxygen Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
TEAC	TROLOX Equivalent Antioxidant Capacity
TLC	Thin Layer Chromatography
TOF	Time Of Flight
TROLOX	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid

## **8. SEZNAM PŘÍLOH**

---

Příloha 1: Členění konzervářských výrobků a základní požadavky na jejich jakost.

Příloha 2: Recepty na domácí zpracování angreštu.

Příloha 3: Podrobné hodnoty pro gravimetrické stanovení sušiny.

Příloha 4: Podrobné hodnoty pro refraktometrické stanovení sušiny.

Příloha 5: Podrobné hodnoty pro stanovení anthokyanů.

Příloha 6: Podrobné hodnoty pro stanovení vitamínu C.

Příloha 7: Podrobné hodnoty pro kalibrační přímku 1 a kalibrační přímku 2.

Příloha 8: Podrobné hodnoty pro použitá ředění Inviety 2011, Inviety 2012 a výpočet zhášecí aktivity DPPH.

## 9. PŘÍLOHY

### Příloha 1. Členění konzervářských výrobků a základní požadavky na jejich jakost.

Druh	Skupina	Podskupina	Požadavky na jakost
Zpracovávané ovoce	Kompoty	Jednodruhové, smíšené. S přidavkem cukru, bez přidavku cukru, ve vlastní šťávě.	r.š. = max. 48 %, u nízkoenergetických max. 40 % kyselost 0,3 – 2,5 %, tedy pH max. 4
	Marmelády	Jednodruhové, smíšené. S přidavkem cukru, bez přidavku cukru.	r.š. = min. 60 % kyselost 0,6 – 2,6 %
	Džemy	Jednodruhové, smíšené. S přidavkem cukru, bez přidavku cukru.	r.š. = min. 60 % kyselost 0,6 – 2,6 %
	Rosoly	Jednodruhové, smíšené. S přidavkem cukru, bez přidavku cukru	r.š. = min. 60 % kyselost 0,6 – 2,6 %
	Povidla	Jednodruhová, smíšená.  Slazená, neslazená.	Slazená povidla: r.š. = min. 60 % kyselost 0,6 – 2,6 %
	Klevely	Jednodruhové, smíšené. Slazené, neslazené.	Není uvedeno
	Ovocné protlaky	Jednodruhové, směsi. Slazené, neslazené.	Slazené: r.š. = max. 29 % kyselost 0,6 – 2,5 % Neslazené: r.š. = 7 – 11 % kyselost 0,6 – 2,5 %
	Sušené ovoce	Jednodruhové, směsi.	Sušina = min. 70 %, u švestek min. 67 %
	Proslazené nebo kandované ovoce	Jednodruhové, směsi.	r.š. = min. 70 %
	Ovoce naložené v lihu	Ovocné bowle. Koktejlové ovoce. Ovoce v lihu.	Ovocné bowle: Obsah alkoholu min. 13 %, hmotnost ovoce min. 45 %. Ovoce v lihu: Obsah alkoholu min. 20 %.
	Upravené chlazené nebo čerstvé ovoce	Jednodruhové, směsi.	Není uvedeno.

Zkratka r.š. znamená „refraktometrická sušina“, kyselost se stanovuje jako kyselina citrónová.  
Zpracováno dle [24, 26].

## **Příloha 2. Recepty na domácí zpracování angreštu.**

### **Angreštový kompot**

**Suroviny:** téměř zralý pevný angrešt, nejlépe střední velikosti, cukr

**Příprava nálevu:** 700 g cukru na 1 l vody

**Postup:** Angrešt opereme a odřízneme stopky a zbytky okvědí. Zralé plody propíchneme vidličkou nebo jehlicí, méně zralé můžeme předvařit 2 – 3 minuty ve vodě teplé asi 75 °C. Poté bobule nasypeme do zavařovacích sklenic, zalijeme horkým nálevem a ihned uzavřeme. Vložíme do sterilizačního hrnce a sterilujeme v závislosti na velikosti sklenice buď 20 minut u sklenic o objemu 0,7 – 0,9 l, nebo 15 minut u sklenic o objemu 0,5 l. K tomuto sterilizačnímu času musíme přičíst čas, než se voda v hrnci ohřeje na teplotu 85 °C, při níž sterilizace probíhá. Ohřev trvá zhruba 30 minut. Po ukončení sterilizace sklenice ochladíme. [9]

### **Kompot z angreštu a třešní**

Protože ne každý má rád chuť angreštového kompotu i přes jeho nesporně blahodárné vlastnosti, je velmi výhodné připravit v tomto případě kompot v kombinaci angreštu a třešní. Výrazná pikantní chuť angreštu obohatí poměrně mdlé třešně.

**Suroviny:** téměř zralý, pevný angrešt, třešně (nejlépe červené)

**Příprava nálevu:** 300 g cukru na 0,8 l vody

**Postup:** Odstopkované třešně a odstopkovaný, zbytků okvědí zbavený, angrešt důkladně promyjeme. Do sklenic plníme buď vrstvu angreštu a vrstvu třešní několikrát po sobě, nebo předem připravenou směs. Zalijeme teplým nálevem. Uzavřeme víčkem a sterilujeme 15 minut při teplotě 90 °C. [5]

### **Angreštový džem**

**Suroviny:** méně zralý angrešt, cukr

**Dávka cukru:** 800 g cukru na 1 kg angreštu

**Postup:** Opraný angrešt zbavíme stopek a okvědí. Dvě třetiny bobulí vložíme do hrnce a zalijeme vodou. Dusíme pod poklicí do změknutí. Měkký angrešt prolisujeme přes síto nebo kuchyňský mlýnek na ovoce. Protlak zvážíme a spolu se zbylými plody vložíme do nízkého a širokého hrnce. Za stálého míchání ponecháme asi 5 minut odpařovat vodu z ovoce, poté přidáme potřebnou dávku cukru tak, aby nebyl přerušen var, a vaříme ještě zhruba 3 minuty. Zkoušíme rosolování. Hotový horký džem plníme do teplých skleniček až po okraj, uzavřeme a necháme vychladnout a dnem vzhůru. [9]

### **Angreštový džem s černým rybízem**

**Suroviny:** 70% méně zralého angreštu, 30 % rybízu, cukr

**Dávka cukru:** 800 g cukru na 1 kg ovoce

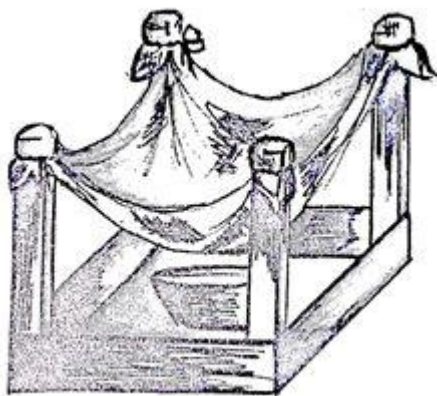
**Postup:** Vhodnou variací angreštového džemu je jeho obohacení černým rybízem. Až do prolisování přes síto nebo kuchyňský mlýnek postupujeme stejně jako u samotného angreštového džemu. Poté protlak v dávkách do 1 kg vaříme v nízkém a širokém hrnci po dobu asi 5 minut. Přidáme menší část z dávky cukru, polovinu zbylého angreštu a polovinu černého rybízu, které jsme před tím rozmačkali. Vaříme 3 minuty. Znovu přidáme zbytek cukru a rozmačkané ovoce, až začne džem rosolovat. Stejně jako v předchozím případě naplníme džemem teplé sklenice až po okraj, zavíčkuje a obrátíme dnem vzhůru. [9]

### **Angreštový rosol**

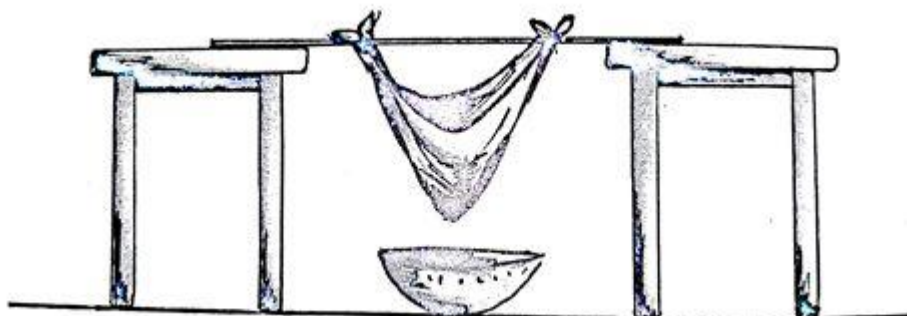
**Suroviny:** nedozrálý nebo zralý angrešt, cukr

**Dávka cukru:** 600 až 700 g na 1 kg angreštové šťávy

**Postup:** Angrešt opereme a očistíme od stopek a zbytků okvětlí. Rozmačkáme, podlijeme vodou a pod pokličkou půl hodiny dusíme, za občasného promíchání. Rozvařený angrešt nalijeme do plátěného pytlíku a pověsíme na tyč, případně necháme okapat tak, že na nohy převrácené stoličky navážeme dvojité plátno. Pod pytlík nebo plátno umístíme misku na šťávu. Tu pak odpařujeme v nízkém, ale širokém hrnci. Když už zbývají asi dvě třetiny z původního objemu, přidáme cukr a za stálého míchání vaříme do vzniku rosolu. Pokud se během varu tvoří pěna, sebereme ji lžící. Horký rosol nalijeme do teplých sklenic a poklopíme dnem vzhůru. Vychladlý a tuhý rosol má být průsvitný a tuhý tak, aby se dal krájet. [9]



Obr. 26. Filtrování na nohách obrácené stoličky [9].



Obr. 27. Filtrování na tyči [9].

### **Angreštové víno**

I když je na víno z rybízu a angreštu mnoho názorů, přece jen je mezi zahrádkáři poměrně oblíbené.

**Suroviny:** plody angreštu, cukr, voda

**Dávka cukru:** 200 g cukru na 1 kg šťávy v případě stolního vína, 330 g cukru na 1 kg šťávy v případě dezertního vína

**Postup:** Omyté plody rozdrtíme, na drť nalijeme trochu vody, necháme 2-3 dny stát a vylisujeme. Můžeme zvolit jeden ze způsobů popsaných u angreštového rosolu. Získanou šťávu naředíme vodou v poměru 1:1. Poté přidáme cukr a necháme v demižonu kvasit. Dvakrát stáčíme. Víno zraje zhruba rok. [5]

### **Šťáva z angreštu**

Výživově nejlepší je požívání čerstvých šťáv připravených pomocí odšťavňovače. Ty však mohou při delším skladování začít kvasit nebo se jinak kazit. Je proto vhodné snížit aktivitu vody a tepelně produkt sterilizovat, aby nedocházelo k rozvoji mikroorganismů. Příkladem, jak toho docílit, může být tento recept na přípravu domácího angreštového trvanlivého džusu.

**Suroviny:** angrešt, cukr, kyselina citrónová

**Dávky surovin:** 200 – 300 g protlaku, 60 – 100 g cukru a 2 – 4 g kyseliny citrónové na 1 l džusu. Množství se však liší v závislosti na chuťových charakteristikách ovoce.

**Postup:** Angrešt omyjeme, odstopkujeme a odstraníme rovněž zbytek okvětlí. Rozmačkáme a rozvaříme v hrnci pod pokličkou nebo v tlakovém hrnci. Uvařenou směs rozmixujeme a protřeme přes jemné sítko pomocí stěrky. Přidáme cukr, kyselinu citrónovou a pouze malé množství vody tak, abychom dosáhli tekuté, ale ne řídké konzistence. Ochutnáme, případně ještě upravíme a plníme do sklenic, které sterilizujeme 20 minut při 90 °C. Před požíváním zředíme vodou. [5]

**Příloha 3. Podrobné hodnoty pro gravimetrické stanovení sušiny.**

Odrůda angreštu	Navážka plodu [g]	Hmotnost po vysušení [g]	Celková sušina [%]
Captivator 2011	10,3169	1,4200	13,7638
	9,3863	1,3416	14,2932
	8,1466	1,1668	14,3225
Captivator 2012	9,5870	1,0003	10,4339
	6,1845	0,8294	13,4109
	5,8985	0,7971	13,5136
Hinnonmaki Rot	5,8323	0,7536	12,9211
	6,3890	1,0678	16,7131
	7,2159	1,1677	16,1823
Invicta 2011	7,7053	1,4134	18,3432
	8,6905	1,3248	15,2442
	5,3185	0,6411	12,0542
Invicta 2012	7,8972	0,9592	12,1461
	5,2791	0,7938	15,0367
	6,0914	0,9468	15,5432
Karmen 2012	5,6829	0,8913	15,6839
	6,2593	1,0249	16,3740
	7,1278	1,0087	14,1516
Rolonda 2011	8,4778	1,4454	17,0492
	5,3121	0,8319	15,6605
	6,2773	1,0089	16,0722
Rolonda 2012	9,7381	0,9886	10,1519
	8,3945	0,8681	10,3413
	6,5217	0,8738	13,3983
Spine Free	6,3513	0,9097	14,3231
	9,9693	1,5681	15,7293
	8,8683	1,3255	14,9465

**Příloha 4. Podrobné hodnoty pro refraktometrické stanovení sušiny.**

Odrůda	Hodnota indexu lomu $n_D^{25}$ (bez filtrace)	Hodnota indexu lomu $n_D^{25}$ (s filtrací)	Hodnota indexu lomu $n_D^{20}$	Obsah sacharózy [%]
Captivator 2011	1,3532	1,3530	1,3539	11,0882
	1,3497	1,3501	1,3504	9,0294
	1,3514	1,3516	1,3521	10,0294
Captivator 2012	1,3563	1,3561	1,3570	12,9118
	1,3573	1,3575	1,3580	13,5000
	1,3559	1,3561	1,3566	12,6765
Hinnonmaki Rot	1,3528	1,3530	1,3535	10,8529
	1,3534	1,3535	1,3541	11,2059
	1,3554	1,3552	1,3561	12,3824
Invicta 2011	1,3493	1,3496	1,3500	8,7941
	1,3473	1,3473	1,3480	7,6176
	1,3482	1,3479	1,3489	8,1471
Invicta 2012	1,3556	1,3555	1,3563	12,5000
	1,3560	1,3559	1,3567	12,7353
	1,3552	1,3553	1,3559	12,2647
Karmen 2012	1,3600	1,3601	1,3607	15,0882
	1,3628	1,3629	1,3635	16,7353
	1,3599	1,3601	1,3606	15,0294
Rolonda 2011	1,3522	1,3502	1,3529	10,5000
	1,3528	1,3531	1,3535	10,8529
	1,3531	1,3529	1,3538	11,0294
Rolonda 2012	1,3600	1,3600	1,3607	15,0882
	1,3622	1,3624	1,3629	16,3824
	1,3604	1,3608	1,3611	15,3235
Spine Free	1,3605	1,3601	1,3612	15,3824
	1,3618	1,3615	1,3625	16,1471
	1,3609	1,3611	1,3616	15,6176

**Příloha 5. Podrobné hodnoty pro stanovení anthokyanů.**

Odrůda angreštu	Číslo vz.	Absorbance při $\lambda = 510$ nm		Absorbance při $\lambda = 700$ nm		Absor- bance A	Koncentrace anthokyanů [mg.l <sup>-1</sup> ]	Koncentrace anthokyanů [mg.100g <sup>-1</sup> ]
		pH = 4,5	pH = 1	pH = 4,5	pH = 1			
Catpivator 2011	1	0,074	0,145	0,040	0,043	0,068	34,066	2,555
		0,076	0,144	0,044	0,048	0,064	32,062	2,405
		0,078	0,142	0,041	0,044	0,061	30,559	2,292
	2	0,122	0,141	0,060	0,039	0,040	20,039	1,503
		0,121	0,145	0,061	0,040	0,045	22,543	1,691
		0,114	0,140	0,064	0,039	0,051	25,549	1,916
	3	0,087	0,139	0,044	0,039	0,057	28,555	2,142
		0,086	0,138	0,045	0,039	0,058	29,056	2,179
		0,085	0,135	0,047	0,040	0,057	28,555	2,142
Hinnonmaki Rot	1	0,051	0,307	0,016	0,022	0,250	125,242	9,393
		0,055	0,312	0,019	0,022	0,254	127,246	9,543
		0,061	0,311	0,020	0,018	0,252	126,244	9,468
	2	0,048	0,312	0,017	0,025	0,256	128,247	9,619
		0,055	0,322	0,017	0,025	0,259	129,750	9,731
		0,053	0,318	0,018	0,031	0,252	126,244	9,468
	3	0,054	0,362	0,017	0,037	0,288	144,278	10,821
		0,055	0,367	0,019	0,047	0,284	142,274	10,671
		0,054	0,373	0,020	0,051	0,288	144,278	10,821
Invicta 2011	1	0,077	0,080	0,039	0,037	0,005	2,505	0,188
		0,085	0,071	0,052	0,045	-0,007	-3,507	-0,263
		0,084	0,071	0,054	0,045	-0,004	-2,004	-0,150
	2	0,080	0,067	0,044	0,035	-0,004	-2,004	-0,150
		0,084	0,072	0,051	0,042	-0,003	-1,503	-0,113
		0,083	0,068	0,052	0,042	-0,005	-2,505	-0,188
	3	0,070	0,079	0,033	0,040	0,002	1,002	0,075
		0,072	0,086	0,045	0,051	0,008	4,008	0,301
		0,076	0,097	0,045	0,053	0,013	6,513	0,488
Invicta 2012	1	0,062	0,083	0,035	0,050	0,006	3,006	0,225
		0,062	0,083	0,045	0,056	0,010	5,010	0,376
		0,065	0,084	0,046	0,054	0,011	5,511	0,413
	2	0,069	0,088	0,033	0,045	0,007	3,507	0,263
		0,075	0,089	0,049	0,053	0,010	5,010	0,376
		0,072	0,086	0,045	0,057	0,002	1,002	0,075
	3	0,074	0,095	0,038	0,059	0,000	0,000	0,000
		0,071	0,092	0,047	0,062	0,006	3,006	0,225
		0,075	0,089	0,050	0,069	-0,005	-2,505	-0,188

Odrůda angreštu	Číslo vz.	Absorbance při $\lambda = 510 \text{ nm}$		Absorbance při $\lambda = 700 \text{ nm}$		Absor- bance A	Koncentrace anthokyanů [mg.l <sup>-1</sup> ]	Koncentrace anthokyanů [mg.100g <sup>-1</sup> ]
		pH = 4,5	pH = 1	pH = 4,5	pH = 1			
Karmen	1	0,106	0,325	0,036	0,068	0,187	93,681	7,026
		0,105	0,334	0,052	0,067	0,214	107,207	8,041
		0,110	0,333	0,053	0,065	0,211	105,704	7,928
	2	0,098	0,349	0,038	0,088	0,201	100,694	7,552
		0,102	0,354	0,058	0,082	0,228	114,220	8,567
		0,106	0,358	0,054	0,083	0,223	111,716	8,379
	3	0,101	0,336	0,045	0,085	0,195	97,688	7,327
		0,106	0,350	0,055	0,081	0,218	109,211	8,191
		0,106	0,351	0,055	0,093	0,207	103,700	7,778
Rolonda 2011	1	0,120	0,290	0,057	0,060	0,167	83,661	6,275
		0,113	0,287	0,072	0,062	0,184	92,178	6,913
		0,111	0,289	0,064	0,063	0,179	89,673	6,725
	2	0,117	0,308	0,052	0,061	0,182	91,176	6,838
		0,110	0,300	0,052	0,065	0,177	88,671	6,650
		0,105	0,301	0,054	0,067	0,183	91,677	6,876
	3	0,108	0,344	0,052	0,094	0,194	97,188	7,289
		0,109	0,350	0,055	0,107	0,189	94,683	7,101
		0,112	0,354	0,056	0,106	0,192	96,186	7,214
Rolonda 212	1	0,101	0,334	0,047	0,116	0,164	82,159	6,162
		0,098	0,340	0,047	0,126	0,163	81,658	6,124
		0,099	0,339	0,050	0,129	0,161	80,656	6,049
	2	0,101	0,337	0,051	0,091	0,196	98,189	7,364
		0,100	0,327	0,052	0,105	0,174	87,168	6,538
		0,102	0,336	0,054	0,108	0,180	90,174	6,763
	3	0,103	0,324	0,056	0,102	0,175	87,669	6,575
		0,106	0,330	0,055	0,120	0,159	79,654	5,974
		0,105	0,339	0,060	0,115	0,179	89,673	6,725
Spine Free	1	0,209	0,804	0,084	0,099	0,580	290,561	21,792
		0,206	0,807	0,090	0,097	0,594	297,574	22,318
		0,216	0,812	0,089	0,099	0,586	293,566	22,017
	2	0,229	0,834	0,095	0,098	0,602	301,582	22,619
		0,222	0,828	0,094	0,099	0,601	301,081	22,581
		0,218	0,824	0,096	0,098	0,604	302,584	22,694
	3	0,212	0,828	0,093	0,101	0,608	304,588	22,844
		0,219	0,834	0,092	0,104	0,603	302,083	22,656
		0,213	0,834	0,096	0,102	0,615	308,094	23,107

**Příloha 6. Podrobné hodnoty pro stanovení vitamínu C.**

Odrůda angreštu	Číslo nástřiku	Plocha píku [ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ]	Koncentrace kyseliny askorbové [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	Koncentrace kyseliny askorbové [ $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ]
Captivator 2011	1	2478643,00	32,98	20,61
		2515093,00	33,46	20,91
	2	2302390,00	30,68	19,17
		2302549,00	30,68	19,17
	3	2562426,00	34,08	21,30
		2516721,00	33,48	20,93
Hinnonmaki Rot	1	2479691,00	33,00	20,62
		2527982,00	33,63	21,02
	2	2468633,00	32,85	20,53
		2544658,00	33,85	21,16
	3	1832824,00	24,52	15,33
		1796913,00	24,05	15,03
Invicta 2011	1	1468292,00	21,17	13,23
		1492394,00	21,52	13,45
	2	1477154,00	21,30	13,31
		1488307,00	21,46	13,42
	3	1474767,00	21,27	13,29
		1468292,00	21,17	13,23
Invicta 2012	1	964721,00	13,15	8,22
		963910,00	13,14	8,22
	2	707055,00	9,78	6,11
		681931,00	9,45	5,91
	3	727877,00	10,05	6,28
		715889,00	9,90	6,18
Karmen	1	1513193,00	20,34	12,71
		1515104,00	20,36	12,73
	2	2115072,00	28,22	17,64
		2127857,00	28,39	17,74
	3	1619899,00	21,74	13,59
		1616146,00	21,69	13,55
Rolonda 2011	1	896836,00	12,27	7,67
		892116,00	12,20	7,63
	2	754904,00	10,41	6,50
		741376,00	10,23	6,39
	3	955209,00	13,03	8,14
		929766,00	12,70	7,94

Odrůda angreštu	Číslo nást- řiku	Plocha píku [ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ]	Koncentrace kyseliny askorbové [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	Koncentrace kyseliny askorbové [ $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ]
Rolonda 212	1	3875142,00	51,27	32,05
		3741864,00	49,53	30,96
	2	3708987,00	49,10	30,69
		3159627,00	41,90	26,19
	3	3123320,00	41,43	25,89
		3106791,00	41,21	25,76
Spine Free	1	2754059,00	36,59	22,87
		2741362,00	36,42	22,77
	2	2853170,00	37,89	23,68
		2780124,00	36,93	23,08
	3	2805634,00	37,27	23,29
		2748561,00	36,52	22,82

**Příloha 7. Podrobné hodnoty pro kalibrační přímku 1 a kalibrační přímku 2.**

Koncentrace kyseliny askorbové [mg.l <sup>-1</sup> ]	Číslo nástřiku	Plocha píku [μV.s]
1	1	54104,00
	2	54555,00
	3	56152,00
10	1	725354,00
	2	732974,00
	3	742478,00
20	1	1469005,00
	2	1403883,00
	3	1416820,00
40	1	2708924,00
	2	2746250,00
	3	2715650,00

Koncentrace kyseliny askorbové [mg.l <sup>-1</sup> ]	Číslo nástřiku	Plocha píku [μV.s]
1	1	84175,00
	2	89947,00
	3	88750,00
10	1	665813,00
	2	657218,00
	3	649983,00
40	1	3039694,00
	2	3035894,00
	3	3013207,00

**Příloha 8. Podrobné hodnoty pro použitá ředění Invicty 2011, Invictu 2012 a výpočet zhášecí aktivity DPPH.**

Invicta 2011 - nenaředěné							
Čas t [s]	Absorbance vz. 1	Absorbance vz. 2	Absorbance vz. 3	Čas t [s]	Absorbance vz. 1	Absorbance vz. 2	Absorbance vz. 3
<b>0</b>	0,712	0,671	0,603	<b>190</b>	0,166	0,173	0,157
<b>10</b>	0,533	0,521	0,486	<b>200</b>	0,159	0,165	0,151
<b>20</b>	0,471	0,451	0,436	<b>210</b>	0,153	0,160	0,144
<b>30</b>	0,433	0,420	0,397	<b>220</b>	0,146	0,154	0,139
<b>40</b>	0,400	0,392	0,370	<b>230</b>	0,140	0,148	0,134
<b>50</b>	0,378	0,363	0,342	<b>240</b>	0,136	0,143	0,129
<b>60</b>	0,344	0,340	0,320	<b>250</b>	0,130	0,138	0,125
<b>70</b>	0,320	0,320	0,300	<b>260</b>	0,126	0,133	0,120
<b>80</b>	0,302	0,299	0,280	<b>270</b>	0,122	0,129	0,116
<b>90</b>	0,280	0,281	0,264	<b>280</b>	0,118	0,125	0,112
<b>100</b>	0,266	0,264	0,249	<b>290</b>	0,114	0,121	0,109
<b>110</b>	0,248	0,253	0,235	<b>300</b>	0,110	0,118	0,106
<b>120</b>	0,230	0,240	0,222	<b>310</b>	0,107	0,115	0,102
<b>130</b>	0,221	0,226	0,209	<b>320</b>	0,104	0,112	0,099
<b>140</b>	0,208	0,216	0,198	<b>330</b>	0,101	0,108	0,097
<b>150</b>	0,202	0,206	0,190	<b>340</b>	0,098	0,106	0,094
<b>160</b>	0,191	0,197	0,181	<b>350</b>	0,095	0,103	0,092
<b>170</b>	0,182	0,188	0,172	<b>360</b>	0,093	0,100	0,090
<b>180</b>	0,174	0,181	0,164	<b><math>A_0 = 0,933</math></b>			

Invicta 2011 – naředěné v poměru 1:1							
Čas t [s]	A vz. 1	A vz. 2	A vz. 3	Čas t [s]	A vz. 1	A vz. 2	A vz. 3
0	0,7030	0,7800	0,7820	190	0,3280	0,3140	0,3130
10	0,6240	0,6500	0,6350	200	0,3200	0,3060	0,3030
20	0,5980	0,6080	0,5920	210	0,3120	0,2980	0,3000
30	0,5730	0,5770	0,5620	220	0,3040	0,2900	0,2950
40	0,5450	0,5480	0,5350	230	0,2960	0,2790	0,2820
50	0,5200	0,5220	0,5090	240	0,2890	0,2700	0,2740
60	0,5020	0,5000	0,4870	250	0,2820	0,2630	0,2680
70	0,4810	0,4780	0,4670	260	0,2760	0,2570	0,2610
80	0,4630	0,4580	0,4510	270	0,2710	0,2520	0,2580
90	0,4460	0,4410	0,4310	280	0,2640	0,2460	0,2530
100	0,4310	0,4250	0,4160	290	0,2580	0,2390	0,2460
110	0,4160	0,4090	0,4010	300	0,2530	0,2370	0,2440
120	0,4040	0,3900	0,3870	310	0,2480	0,2280	0,2390
130	0,3910	0,3850	0,3750	320	0,2390	0,2260	0,2330
140	0,3780	0,3650	0,3630	330	0,2360	0,2210	0,2280
150	0,3670	0,3560	0,3480	340	0,2330	0,2160	0,2250
160	0,3560	0,3400	0,3360	350	0,2280	0,2110	0,2190
170	0,3470	0,3330	0,3270	360	0,2240	0,2060	0,2170
180	0,3370	0,3250	0,3210				
Invicta 2011 – naředěné v poměru 2:1							
Čas t [s]	A vz. 1	A vz. 2	A vz. 3	Čas t [s]	A vz. 1	A vz. 2	A vz. 3
0	0,8200	0,8490	0,8520	190	0,4630	0,4930	0,4910
10	0,7430	0,7690	0,7620	200	0,4560	0,4880	0,4830
20	0,7150	0,7410	0,7380	210	0,4480	0,4780	0,4760
30	0,6930	0,7150	0,7150	220	0,4430	0,4700	0,4670
40	0,6680	0,6860	0,6930	230	0,4360	0,4630	0,4610
50	0,6430	0,6700	0,6720	240	0,4270	0,4570	0,4550
60	0,6270	0,6560	0,6510	250	0,4210	0,4500	0,4490
70	0,6110	0,6360	0,6340	260	0,4180	0,4440	0,4420
80	0,5940	0,6190	0,6170	270	0,4100	0,4370	0,4370
90	0,5780	0,6040	0,6020	280	0,4040	0,4310	0,4320
100	0,5630	0,5900	0,5880	290	0,3970	0,4250	0,4260
110	0,5480	0,5780	0,5750	300	0,3920	0,4180	0,4210
120	0,5360	0,5670	0,5600	310	0,3870	0,4150	0,4160
130	0,5240	0,5550	0,5490	320	0,3800	0,4100	0,4120
140	0,5120	0,5440	0,5400	330	0,3770	0,4040	0,4070
150	0,5020	0,5330	0,5290	340	0,3720	0,4000	0,4020
160	0,4900	0,5240	0,5180	350	0,3680	0,3950	0,3980
170	0,4790	0,5130	0,5080	360	0,3630	0,3900	0,3950
180	0,4720	0,5030	0,5000				

Invicta 2012 - nenaředěné							
Čas t [s]	Absorbance vz. 1	Absorbance vz. 2	Absorbance vz. 3	Čas t [s]	Absorbance vz. 1	Absorbance vz. 2	Absorbance vz. 3
0	0,456	0,488	0,512	190	0,097	0,098	0,105
10	0,398	0,401	0,413	200	0,093	0,094	0,098
20	0,355	0,360	0,372	210	0,089	0,089	0,094
30	0,319	0,323	0,334	220	0,085	0,086	0,090
40	0,284	0,290	0,299	230	0,081	0,081	0,087
50	0,260	0,269	0,274	240	0,077	0,079	0,082
60	0,236	0,245	0,248	250	0,074	0,077	0,079
70	0,220	0,224	0,277	260	0,071	0,073	0,076
80	0,203	0,208	0,209	270	0,069	0,071	0,073
90	0,187	0,188	0,193	280	0,066	0,069	0,071
100	0,172	0,175	0,178	290	0,064	0,067	0,068
110	0,161	0,162	0,169	300	0,062	0,065	0,067
120	0,149	0,150	0,156	310	0,060	0,064	0,065
130	0,140	0,142	0,148	320	0,059	0,062	0,062
140	0,130	0,132	0,139	330	0,057	0,060	0,061
150	0,124	0,124	0,132	340	0,055	0,059	0,060
160	0,116	0,116	0,125	350	0,054	0,058	0,058
170	0,109	0,110	0,116	360	0,053	0,057	0,056
180	0,103	0,105	0,110	$A_0 = 0,875$			

Výpočet zhášecí aktivity DPPH			
Odúrda	Absorbance $A_0$	Absorbance $A_{80}$	Zhášecí aktivita DPPH [%]
Invicta 2011	0,933	0,302	67,631
		0,299	67,953
		0,280	69,989
Invicta 2012	0,875	0,203	76,800
		0,208	76,229
		0,209	76,114