

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

CHARAKTERISTIKA ŠŤÁVY Z PLODŮ PĚSTOVANÝCH ODRŮD BEZU
ČERNÉHO
NA ZÁKLADĚ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

LUCIE MIZEROVSKÁ

BRNO 2010



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

CHARAKTERISTIKA ŠŤÁVY Z PLODŮ PĚSTOVANÝCH ODRŮD BEZU ČERNÉHO NA ZÁKLADĚ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ

CHARACTERIZATION OF ELDER JUICE ON THE BASIS OF SOME CHEMICAL PARAMETERS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

LUCIE MIZEROVSKÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

PhDr. MIROSLAV HRSTKA, Ph.D.

BRNO 2010



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

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0448/2009** Akademický rok: **2009/2010**
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student(ka): **Lucie Mizerovská**
Studijní program: Chemie a technologie potravin (B2901)
Studijní obor: Biotechnologie (2810R001)
Vedoucí práce **PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.**
Konzultanti:

Název bakalářské práce:

Charakteristika šťávy z plodů pěstovaných odrůd bezu černého
na základě vybraných chemických parametrů

Zadání bakalářské práce:

1. V teoretické části uvést botanickou charakteristiku bezu černého a pojednat o jeho léčivých účincích, šlechtění a pěstování.
2. V experimentální části provést stanovení vybraných chemických parametrů ve šťávě z plodů pěstovaných odrůd rostlin bezu černého.

Termín odevzdání bakalářské práce: 28.5.2010

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

Lucie Mizerovská
Student(ka)

PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Cílem této práce bylo stanovit vybrané chemické parametry šťávy z plodů černého bezu a to jeho plané formy a čtyř vyšlechtěných odrůd *Albida 08*, *Albida 09*, *Dana*, a *Haschberg*. Relativní hustota byla nejnižší u odrůdy *Albida 09* (1,0149) a nejvyšší u plané formy bezu z okolí Padochova (1,0337). Hodnoty pH se pohybovaly v rozmezí od 3,62 u odrůdy *Haschberg* až po 4,85 u odrůdy *Albida 08*. Nejvyšší titrační kyselost byla stanovena u odrůdy *Haschberg* (13,12 g l⁻¹), nejmenší obsah kyselin byl stanoven u odrůdy *Albida 08* (3,47 g l⁻¹). Nejvyšší obsah redukujících cukrů má *Albida 08* (9,64%) společně s planou formou bezu z okolí Padochova (9,47 %), nejméně cukrů bylo stanoveno u odrůdy *Dana* (4,79%). Obsah kyseliny citronové se pohyboval v rozmezí 4,76 g l⁻¹ u odrůdy *Dana* po 13,48 g l⁻¹ u odrůdy *Haschberg*. Celkový obsah aminokyselin vyjádřený jako formolové číslo byl nejmenší u odrůdy *Haschberg* (12,9) a nejvyšší u plané formy bezu z okolí Padochova (59,2).

ABSTRACT

The aim of this thesis was to determine selected chemical parameters of elderberry juice namely its wild variety and four cultivated types *Albida 08*, *Albida 09*, *Dana* and *Haschberg*. The relative density was the lowest for cultivar *Albida 09* (1.0149) and the highest for the wild variety of elder from the surroundings of Padochov (1.0337). Values of pH ran within the range of 3.62 for cultivar *Haschberg* to 4.85 for cultivar *Albida 08*. The highest titrating acidity was determined by cultivar *Haschberg* (13.12 g l⁻¹), the lowest content of acids was determined by cultivar *Albida 08* (3.47 g l⁻¹). The highest content of reducing sugars had cultivar *Albida 08* (9.64%) together with the wild variety of elder from the surroundings of Padochov (9.47 %), the minimum amount of sugars was determined by cultivar *Dana* (4.79 %). The content of citric acid varied between 4.76 g l⁻¹ by cultivar *Dana* and 13.48 g l⁻¹ by cultivar *Haschberg*. The total amino acid content, expressed as a formole number, was the lowest in cultivar *Haschberg* (12.9) and the highest in the wild variety of elder from the surroundings of Padochov (59.2).

KLÍČOVÁ SLOVA

Bez černý, bezová šťáva, chemické parametry

KEYWORDS

Elderberry, elder juice, chemical parameters

MIZEROVSKÁ, L. *Charakteristika šťávy z plodů pěstovaných odrůd bezu černého na základě vybraných chemických parametrů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 34 s.

Vedoucí bakalářské práce PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

Podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat mému vedoucímu bakalářské práce panu PhDr. Miroslavu Hrstkovi, Ph.D. za poskytnutí cenných rad a připomínek, trpělivost a pomoc při realizaci bakalářské práce.

OBSAH

1 ÚVOD.....	6
2 TEORETICKÁ ČÁST	7
2.1 Botanická charakteristika	7
2.2 Původ a výskyt.....	7
2.3 Doba a způsob sběru.....	7
2.4 Léčivé účinky	8
2.5 Další zástupci rodu Sambucus.....	8
2.6 Šlechtění a přehled vyšlechtěných odrůd	9
2.7 Chemické složení šťávy z plodů.....	10
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	11
3.1 Materiál.....	11
3.2 Metody.....	11
3.2.1 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové.....	11
3.2.2 Gravimetrické stanovení redukujících cukrů.....	13
3.2.3 Stanovení relativní hustoty podle ČSN EN 1131	13
3.2.4 Stanovení hodnoty pH	14
3.2.5 Stanovení titrační kyselosti.....	14
3.2.6 Stanovení formolového čísla	15
4 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	17
4.1 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové.....	17
4.2 Gravimetrické stanovení redukujících cukrů.....	19
4.3 Stanovení relativní hustoty podle ČSN EN 1131	23
4.4 Stanovení hodnoty pH	25
4.5 Stanovení titrační kyselosti.....	26
4.6 Stanovení formolového čísla	29
5 ZÁVĚR.....	32
6 LITERATURA	33

1 ÚVOD

Bez černý (*Sambucus nigra* L.) je keř nebo strom rostoucí prakticky po celém světě. Pochází z Evropy a původně se vyskytoval zejména v lužních lesích na záplavové půdě, v pobřežních křovinách a světlých listnatých či smíšených lesích. Dnes roste téměř všude – na rumišťích, u plotů, ve zpustlých zahradách a křovinatých porostech, ale i ve zdivu. Všechny části rostliny mají léčivé účinky, které byly známy již ve starověku a rostlina se proto od pradávna uplatňuje v lidovém léčitelství.

Ve 2. polovině 20. století začaly v Evropě pokusy se šlechtěním černého bezu s cílem získat odrůdy vhodné pro průmyslovou výrobu bezinkových šťáv a extraktů z květů. V současné době je černý bez pěstován v malé míře např. v Anglii, Švédsku, Rakousku a Dánsku. Šťáva z plodů černého bezu má příjemnou ovocnou chuť a obsahuje hodně cukrů, organických kyselin a těkavých aromatických látek. Důležitou součástí bezové šťávy jsou anthokyany a vitamin C, které působí v organismu jako antioxidanty, anthokyany je možné také využít jako přírodní barvivo do potravinářských výrobků.

V České republice se výzkumem odrůd černého bezu zabývá Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy. Na řešení výzkumného projektu QH92223 (Výzkum odrůd černého bezu pro využití v ovocnářské praxi) se podílí i Ústav chemie potravin a biotechnologií Fakulty chemické VUT v Brně a svým malým dílem má k řešení přispět také tato práce.

Cílem předložené bakalářské práce bylo stanovit obsah kyseliny citronové, redukujících cukrů, celkovou aciditu, pH, relativní hustotu a celkový obsah aminokyselin ve vybraných odrůdách, porovnat jednotlivé výsledky a posoudit vliv odrůdy na sledované chemické parametry.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Botanická charakteristika

Bez černý je keř nebo strom, dorůstající výšky až 6 metrů. Jeho latinský název *Sambucus nigra* je odvozen od červeného barviva dužiny (z řeckého *sambyx* – červen) a černé barvy slupky bobulí (z latinského *nigra* – černý). Má šedohnědou až šedou rozpukanou kůru a bílou porézní dřev, tzv. bezovou duši. Listy jsou vstřícné, řapíkaté, lichozpeřené s 2–3 jařmy. Lístky téměř přisedlé, kopinaté až vejčité kopinaté 4–8 cm dlouhé, 1,5–3 cm široké, pilovitě zubaté. Květenstvím je plochý chocholík, 10–25 cm v průměru, tzv. kosmatice. Květy jsou bílé až nažloutlé, kalich pravidelný, pěticípý, trubkovitý, kališní cípy trojúhelníkovitě vejčité, přibližně 0,5 cm dlouhé. Koruna je pětičetná, kolovitá, až 8 mm v průměru, korunní cípy tupé. Kvete od června do července, plodem je lesklá, černofialová, až 6 mm velká peckovice [1,3].

Tabulka č. 1: Taxonomické zařazení černého bezu [4]

Říše:	rostliny (Plantae)
Podříše:	cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
Oddělení:	krytosemenné (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída:	vyšší dvouděložné (<i>Rosopsida</i>)
Řád:	štětkovité (<i>Dipsacales</i>)
Čeleď:	Zimolezovité (<i>Caprifoliaceae</i>)
Rod:	bez (<i>Sambucus</i>)

Kultivary bezu jsou pěstovány pro okrasné účely a extrakty z bezového květu jsou používány jako nápojové a potravinové příchutě. Bezinkové bobule jsou také využívány jako léky nebo základ pro potravinové doplňky [2].

Na velmi starých kmenech bezu je možné objevit jednu zvláštnost, je to tzv. bezová houba (*Exidia auricula judae*), která se lidově nazývá houba černého bezu nebo židovské ucho. Tvar houby opravdu připomíná ucho. Z houby se během celého vegetačního období vytváří a hromadí dužina plodů (*Fungus sambuci* nebo *Fungus auriculae judae*). Houba obsahuje velké množství barosinů a olejů. V lidovém léčitelství je houba černého bezu vynikajícím prostředkem při bolestech a zánětech očí [3].

2.2 Původ a výskyt

Černý bez má svůj původ v Evropě [3]. Jeho severní vegetační hranice probíhá v oblasti jižní části Švédska až do Litvy. Roste na slunných plochách v mnoha částech Evropy, Asie, Severní Afriky a USA [2]. Původně se vyskytoval zejména v lužních lesích na záplavové půdě, v pobřežních křovinách a světlých listnatých či smíšených lesích. U nás je všude hojný, nalezneme jej například na rumišťích, u plotů, ve zpustlých zahradách a křovinatých porostech od nížin až do podhůří. Bez se rozmnožuje pomocí semen. Četní ptáci, především drozdovití, pomáhají rozšiřovat tento druh a rozsévají zkonsumovaná semena často i na věže a zdivo, kde potom vysoce životaschopné rostliny vyklíčí a vyrostou [6]. Daří se mu dobře zejména na půdách s vysokým obsahem dusíku [4].

2.3 Doba a způsob sběru

Květenství (*Flos sambuci*) se sbírá v období od května do června. Sbírají se čerstvě rozvitá květenství, která se odstřihují tak, aby hlavní stopka byla maximálně 1 cm dlouhá. Plodenství (*Fructus sambuci*) se sbírají v době úplné zralosti tj. od srpna do září [4]. Někdy se sbírá list i mladá kůra. Bezová kůra (*Cortex sambuci*) se sbírá především pro lékařské účely. Sbírá se z mladých výhonků v září a říjnu a suší se ve stínu nebo při umělé teplotě maximálně do

40 °C [3]. Listy bezu (*Folia sambuci*) se sbírají na jaře a suší se v místnosti s dostatečným přísunem čerstvého vzduchu [1,3].

2.4 Léčivé účinky

O bezu se traduje řada pověr a úsloví, co se však bezu nedá zapřít, jsou jeho všestranné léčivé účinky. Často byl pro své četné terapeutické a profylaktické vlastnosti popisován jako „úplná lékárníčka“. Galén jej klasifikoval jako „zahřívající a vysušující“, používal se tedy při stavech chladných a vlhkých, jako jsou katary nebo nadbytečný hlen [7]. Můžeme se o něm dočíst dokonce i v prvním českém herbáři Jana Černého z roku 1517. Také Mattioli píše, že „vnitřně použitý bez má velkou moc vyhánějící“ [8].

Hlavní drogou černého bezu je květ (*Flos sambuci*), ale v lidovém léčitelství se používá i kůra, listy, kořeny a především plody [8]. Droga má výrazný pach a chutná nasládle. Květy působí antikatalárně a potopudně, hodí se proto ideálně při horečnatých nachlazeních a chřipce [7]. Zároveň příznivě ovlivňují cévní stěny, podporují vykašlávání a tvorbu mateřského mléka [1]. Pomáhají také při senné rýmě, je však třeba začít je užívat již počátkem roku dříve, než se zvýší pylový spad. Působí místně protizánětlivě, používají se proto do krémů k ošetření kůže.

Plody černého bezu (*Fructus sambuci*) jsou bez pachu, nakyslé svíravé chuti, která je způsobena přítomností tříslovin [8]. V dřívějších dobách, než se v zimě začalo dovážet ovoce, připravovala se z nich vína a sirupy, které se užívaly preventivně proti nachlazení [7]. Velmi příznivě působí na celou nervovou soustavu, například při bolestech trojklaného nervu, páteře a kloubů. Navíc mírně snižuje krevní tlak. Čerstvé plody mají projímavý účinek, nezralé bezinky nelze podávat za syrova, neboť mohou zvláště v nedozrálém stavu, vyvolávat příznaky otrav [6].

Z listů se kdysi připravovala oblíbená zelená bezová mast, která se používala na pohmožděniny, výrony, rány a hemoroidy [7]. List (*Folia sambuci*) se využívá na tzv. suché zábaly, kdy se do čerstvých listů balí klouby při revmatických bolestech. List ve formě čaje čistí krev a pokožku a pomáhá i jako součást čajů proti akné. Navíc pomáhá i proti nepříjemnému tělesnému pachu. Údajně má list značný protinádorový účinek, zejména u nádorů zevně přístupných. Používá se forma obkladů, připravených namáčením gázy nebo flanelu do tinktury z listů s přídavkem asi 15% kůry [1].

Kůra je účinná jako jaterní stimulans a v minulosti se používala při úporné zácpě a artritidě [7].

Obě hlavní bezové drogy se mohou kombinovat s celou řadou dalších bylin. Květ se často míchá s květem lípy, brutnáku, s vrbovou kůrou nebo s květem tužebníku. Květová droga nemá žádnou kontraindikaci ani vedlejší účinky. Nepřevařená bezová šťáva může způsobit nevolnost. Příznaky otravy ale může přivodit předávkování šťávy nebo plodů [1].

Z plodů černého bezu je možné připravit celou řadu potravinářských výrobků jako povidla, kompoty, víno nebo likéry. Černý bez patří mezi byliny s velmi širokou a pestrou paletou uplatnění, a to platí i v homeopatii. Pro zhotovení tinktur se používají květy a listy ve stejném poměru a někdy i čerstvá kůra [1].

2.5 Další zástupci rodu Sambucus

Bylinný bez chebdí s botanickým názvem *Sambucus ebulus* roste především v teplejších oblastech. Chebdí se neřadí mezi dřeviny, ale mezi byliny a řadí se do skupiny vysokých trvalek.

V lidovém léčitelství se zpravidla používají bělavé kořeny a květy této rostliny. Plody nejsou požitelné, jsou lehce jedovaté, mohou vyvolat průjem a zvracení. Ve srovnání s plody černého bezu jsou plody bylinného chebdí rovněž černé a jsou poněkud větší a tvrdší.

Plody chutnají nasládle až hořce. Květy se vyznačují silnou vůní, mají bílou až purpurovou barvu s červenými prašníky. I v sušeném stavu je jejich zápach velmi penetrantní [3].

Dalším zástupcem rodu *Sambucus* je bez červený neboli bez hroznovitý (*Sambucus racemosa*), který má ještě jiné lidové názvy jako divoký bez, putující strom nebo horský bez. Latinský název je odvozen podle tvaru plodů „racemosa“ znamená hroznovitý a odpovídá květenství v latách [3]. Květy jsou malé a kalich má trojúhelníkovité cípy [9]. Bez červený roste v lesích, zejména pak v horských oblastech. Od bezu černého se liší zelenavě až žlutými květy ve vejčitých vrcholičnatých latách, hnědou dření větví a červeným zbarvením peckoviček. Plody bezu červeného chutnají ve zpracované formě hořce až kysele, jsou vhodné k přípravě marmelád nebo rosolů.

Kanadský bez (*Sambucus canadensis*) je dva až tři metry vysoký keř s visutými větvemi. Jeho listy jsou tři až pětialočné, sbíhající se do ostrých hrotů. Původní vlastí tohoto rodu bezu je Severní Amerika, roste zde především podél plotů nebo se používá jako okrasná rostlina do živých plotů [3].

2.6 Šlechtění a přehled vyšlechtěných odrůd

Planý bez, jak již bylo řečeno, se hojně využívá jak pro lékařské, tak i pro potravinářské účely, navíc je oblíbenou dřevinou hojně se vysazující v zahradách. Tyto důvody vedly k tomu, že byly vyšlechtěny nové odrůdy se zdokonalenými vlastnostmi. Odrůdy se od sebe liší například různými obsahy fenolových kyselin, flavonoidů, cukrů apod.

Odrůda Haschberg

Tato odrůda byla vyšlechtěna v roce 1965 v Rakousku. Je pro ni charakteristická velmi nízká náchylnost k různým onemocněním a k napadení škůdci. Odrůda Haschberg je velmi odolná proti silným deštům, které ji nemohou nijak poškodit. Rostlina této odrůdy dorůstá výšky okolo dvou metrů [3].

Odrůda Donau

Odrůdu Donau se podařilo vypěstovat v roce 1965 taktéž v Rakousku. Rostlina má jen několik velkých květů, listy jsou velké, hladké, sytě zelené. Donau má ve srovnání s ostatními odrůdami vysoký podíl dřevě větví [3].

Odrůda Prägarten

Pro tuto rostlinu je velice typický rychlý růst, a proto se hodí do nově založených zahrad [3].

Odrůda Hamburg

Tato kultura je známá také pod názvem „černý diamant“ díky opravdu velkým černým plodům. Odrůda je nejčastěji kultivována v severním Německu, v Rakousku a západní Evropě [3].

Odrůda Sambu

Kultura pochází z roku 1977 a je známá především pro velmi chutný sirup, připravovaný z plodů této odrůdy [3].

Odrůda Riese von Voßloch

Tato odrůda bezu je velmi nenáročná na pěstování a vyniká velkými šťavnatými bobulemi. Jeden trs plodů této odrůdy váží až 200g. Kultura Riese von Voßloch dává až dvojnásobné množství plodů ve srovnání s ostatními, běžně rostoucími odrůdami bezu [3].

2.7 Chemické složení šťávy z plodů

Šťáva z plodů *Sambucus nigra* obsahuje sacharidy, organické kyseliny, vitaminy, anthokyaniny, flavonoly, sambunigrin, a aromatické látky [2,10].

Z cukrů je nejvíce zastoupena glukosa a fruktosa, zatímco sacharosa se vyskytuje pouze v malém množství. Bezové plody obsahují malé množství cukrů, srovnatelné například s jablky, které obsahují 115 – 183 g kg⁻¹ celkových analyzovaných cukrů a podstatně nižší množství celkových cukrů než třešně, které průměrně obsahují 150 – 230 g kg⁻¹ cukrů [2].

V plodech černého bezu bylo identifikováno 6 organických kyselin: kyselina citronová, kyselina jablečná, šikimová, fumarová, neochlorogenová a chlorogenová. Nejvíce zastoupenou kyselinou ve všech kultivarech byla kyselina citronová, po ní následovala kyselina jablečná a dále malé koncentrace kyseliny fumarové a šikimové. Obsah hladiny kyseliny citronové se pohyboval v rozmezí od 3,11 g kg⁻¹ v selekci 13 do 4,81 g kg⁻¹ v kultivaru Haschberg. Ve srovnání s jablky, jejichž obsah kyseliny citronové se pohybuje mezi 0,07 a 0,52 g kg⁻¹, třešněmi které obsahují 0,11 až 0,54 g kg⁻¹ kyseliny citronové a višněmi, u nichž dosahovala koncentrace kyseliny citronové 0,08 až 0,14 g kg⁻¹, jsou plody bezu velmi bohaté na obsah této kyseliny [2].

Šťáva z černého bezu obsahuje 20–35 mg/100 ml vitamínu C [11]. Pomeranče obsahují okolo 52 mg/100 g vitamínu C, citrony 58mg/100g a jahody asi 62mg/100 g vitamínu C.

Metodou HPLC bylo ve šťávě z plodů černého bezu identifikováno 5 anthokyanů: kyanidin 3-sambubiosid-5-glukosid, kyanidin 3,5 diglukosid, kyanidin 3-sambucosid, kyanidin 3-glukosid a kyanidin 3rutinosid. Další anthokyanidy jsou přítomny pouze v nepatrném množství. Dva hlavní anthokyaniny v bezu jsou kyanidin 3-sambucosid a kyanidin 3-glukosid. Hlavní anthokyanid byl ve všech bobulích daných kultivarů kyanidin 3sambucosid [2].

Flavonoly jsou žlutá barviva, která doprovázejí anthokyaniny. Ve šťávě z černého bezu byly nalezeny kvercetin, kvercetin 3-rutinosid (rutin) a kvercetin 3-glukosid. Hlavním kvercetinem v těchto bezových kultivarech/selekcích byl kvercetin 3-rutinosid (rutin), s hodnotami v rozsahu 35,6 mg /100 g (selektce 14) až 52,0 mg/100 g (kultivar Haschberg). Tyto výsledky se shodují s koncentrací kvercetinu 3-rutinosidu v plodech černých fíků, které obsahují přibližně 53 mg/100g této sloučeniny. Další dva kvercetiny byly zjištěny pouze v malém množství [2].

Významnou sloučeninou obsaženou především v listech a nezralých plodech bezu černého je kyanogenní glykosid sambunigrin. Při dozrávání však jeho obsah klesá a v době zralosti se již sambunigrin v plodech nevyskytuje. Šťáva z nezralých plodů bezu černého neobsahuje koncentrace sambunigrinu z hlediska zdravotního riziková, může však být sensoricky nepříjemná pro svoji hořkost způsobenou tímto kyanogenním glykosidem [5].

Ve šťávě černého bezu bylo identifikováno celkem 59 těkavých sloučenin, které mají větší nebo menší vliv na sensorické vlastnosti. Nejvíce zastoupeny jsou 2- a 3-methyl-1-butanol v koncentraci 614 ng ml⁻¹ dále hexanal, 2-methyl-1-propanol, 1-hexanol, (Z)-3-hexen-1-ol a benzaldehyd. Průměrné zastoupení mají např. pentanal, 1-penten-3-ol, ethylisovalerát, heptanal, ethylhexanoát a další. V nízké koncentraci se pak vyskytují např. 1-octanol, isopentylacetát, methylheptanoát apod [12].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Materiál

Vzorek 1: Bez černý (*Sambucus nigra* L.) – šlechtěná forma černého bezu, odrůda Albida, sběr na podzim roku 2008.

Vzorek 2: Bez černý (*Sambucus nigra* L.) – šlechtěná forma černého bezu, odrůda, sběr na podzim roku 2009.

Vzorek 3: Bez černý (*Sambucus nigra* L.) – šlechtěná forma černého bezu, odrůda Dana.

Vzorek 4: Bez černý (*Sambucus nigra* L.) – šlechtěná forma černého bezu, odrůda Haschberg.

Vzorek 5: Bez černý (*Sambucus nigra* L.) – planá forma černého bezu, sběr v oblasti Holovous.

Vzorek 6: Bez černý (*Sambucus nigra* L.) – planá forma černého bezu, sběr v oblasti Padochov.

Vzorky byly uchovány v igelitových sáčcích v mrazničce po dobu přibližně šesti měsíců. Před analýzou se vzorky nechaly rozmrazit. Bobule se roztřely v třecí misce a šťáva byla zfiltrována přes vatou.

3.2 Metody

3.2.1 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové

Princip: Metoda je založena na enzymové přeměně citrátu na oxalacetát, z něhož se tvoří spontánní dekarboxylací pyruvát. Následná enzymová redukce oxalacetátu a pyruvátu redukovanou formou nikotinamidadeninukleotidu je sledována spektrofotometricky. Obsah kyseliny citronové odpovídá celkovému úbytku NADH, což je možno měřit poklesem absorbance. Stanovení je založeno na následujících reakcích:

- | | |
|---|-----------------------------|
| (1) citrát → oxalacetát + acetát | (enzym citrátlyasa) |
| (2) oxalacetát + NADH + H ⁺ → L-malát + NAD ⁺ | (enzym malátdehydrogenasa) |
| (3) pyruvát + NADH + H ⁺ → L-laktát + NAD ⁺ | (enzym laktátdehydrogenasa) |

Použitelnost: Normovaná metoda na stanovení kyseliny citronové v ovocných a zeleninových šťávách.

Přístroje a pomůcky: Spektrofotometr, 2 kyvety s optickou dráhou 10 mm, mikropipety.

Chemikálie: Oxalacetát, chlorid zinečnatý, hydrogenuhličitán sodný, síran amonný, pyruvát.

Glycylglycinový tlumivý roztok pH 7,8: 7,13 g glycylglycinu se rozpustí v 70 ml vody, pH se upraví na 7,8 přidávkem asi 13 ml hydroxidu sodného o koncentraci $c(\text{NaOH}) = 5 \text{ mol l}^{-1}$, přidá se 10 ml roztoku chloridu zinečnatého o koncentraci $0,8 \text{ g l}^{-1}$ a doplní se do 100 ml vodou. Roztok je stabilní při 4 °C nejméně 4 týdny.

Roztok NADH: 30 mg disodné soli NADH a 60 mg hydrogenuhličitanu sodného se rozpustí v 6 ml vody. Roztok je stabilní při 4 °C nejméně 4 týdny.

Suspenze enzymů malátdehydrogenasy a laktátdehydrogenasy: 0,270 ml komerčního preparátu malátdehydrogenasy (Sigma-Aldrich) se smíchá s 0,9 ml roztoku síranu amonného o koncentraci 3,2 mol l⁻¹, přidá se 1,5 mg komerčního preparátu laktátdehydrogenasy (Sigma-Aldrich) a směs se dobře promíchá. Suspenze je stabilní při 4 °C nejméně jeden rok.

Suspenze enzymu citrátlyasy: 70 mg komerční citrátlyasy (Sigma-Aldrich) se suspenduje v 0,5 ml ledově studené vody. Suspenze je stabilní nejméně jeden týden při 4 °C a nejméně 4 týdny, pokud je zmražená.

Postup: Vzorek určený k rozboru se naředí tak, že se do odměrné baňky na 100 ml napipetuje 1 ml vzorku a doplní se destilovanou vodou po značku. Stanovení by mělo být prováděno při konstantní teplotě mezi 20–25 °C.

Měření počáteční absorbance slepého pokusu: Do kyvety se napipetuje 1,00 ml glycylglycinového tlumivého roztoku, 0,10 ml roztoku NADH, 2,00 ml vody a 0,02 ml suspenze enzymů malátdehydrogenasy/laktátdehydrogenasy. Promíchá se a asi po 5 minutách se odečte absorbance roztoku (A₁)_{slepého pokusu} proti vzduchu (prostor pro referenční kyvetu zůstane prázdný) při 340 nm.

Měření počáteční absorbance vzorku: Do druhé kyvety se napipetuje 1,00 ml tlumivého roztoku, 0,10 ml roztoku NADH, 0,20 ml analytického vzorku, 1,80 ml vody a 0,02 ml suspenze enzymů malátdehydrogenasy/laktátdehydrogenasy. Promíchá se a asi po 5 minutách se odečte absorbance roztoku (A₁)_{vzorku} proti vzduchu při 340 nm. Jestliže je počáteční absorbance příliš vysoká (A₁>1,000), začne se nové stanovení včetně slepého pokusu, s použitím NADH o nižší koncentraci. Tím je ovlivněna kapacita zkoušky, takže koncentrace analytického vzorku by měla být rovněž zredukována. Jestliže je obsah citrátu ve vzorku menší než 0,02 g l⁻¹, může být množství vzorku zvýšeno až na 2,00 ml. V tom případě musí být množství přidávané vody sníženo tak, aby obě kyvety obsahovaly stejná množství.

Enzymová reakce a kvantifikace: Reakce se startuje přidáním 0,02 ml suspenze enzymu citrátlyasy do obou kyvet. Obsah se promíchá a po ukončení reakce (5–10 min.) se odečte absorbance A₂ roztoku proti vzduchu. Ukončení reakce se zjistí opakovaným měřením absorbance ve dvouminutových intervalech.

Výpočet: Podle reakcí, na kterých je stanovení založeno, je množství použitého NADH (tj. rozdíl absorbance A přímo úměrný koncentraci kyseliny citronové.

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$

Výpočet koncentrace analyzované látky z poklesu absorbance je založen na Lambertově-Beerově zákoně. Obsah kyseliny citronové v gramech na litr vzorku se vypočítá z následující rovnice:

$$\rho = \frac{M.V_1.F.\Delta A}{\varepsilon.\delta.V_2.1000}$$

kde:

M je relativní molekulová hmotnost bezvodé kyseliny citronové = 192,1 g mol⁻¹,

V₁ je celkový objem roztoku v kyvetě v ml,

V₂ je objem roztoku vzorku přidaný do kyvety v ml,

F je faktor ředění vzorku, δ je optická dráha kyvety v cm,

ε je extinkční koeficient NADH (při 340 nm = 6,3 dm³ mmol⁻¹ cm⁻¹).

Stanovený obsah kyseliny citronové se uvádí s přesností na dvě desetinná místa.

Opakovatelnost: Absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou jednotlivých zkoušek, provedených na stejném zkušebním materiálu jedním pracovníkem, za použití stejného zařízení, v nejkratším možném časovém intervalu nepřesáhne hodnotu opakovatelnosti r ve více než 5 % případů. Hodnota opakovatelnosti je:

$$r = 0,095 + 0,025 \rho \text{ (g l}^{-1}\text{)}$$

kde:

ρ je stanovený obsah kyseliny citronové vypočtený jako aritmetický průměr ze dvou jednotlivých stanovení.

3.2.2 Gravimetrické stanovení redukcí cukrů

Princip: Redukující cukry vyredukuje z Fehlingova roztoku oxid měďný, který se po přefiltrování vysuší a zváží a z jeho hmotnosti se vypočítá množství redukcí cukrů.

Použitelnost: Metoda je vhodná pro většinu potravinářských produktů.

Přístroje a pomůcky: Váhy, elektrický vařič, sušárna, filtrační kelímek S4, Erlenmeyerova baňka 250 ml, odsávací baňka.

Chemikálie: Ethanol, diethylether, Fehlingův roztok I, Fehlingův roztok II.

Postup: Do Erlenmeyerovy baňky se napipetuje po 20 ml Fehlingova roztoku I a II, směs se zahřeje asi na 60 °C, přidá se 20 ml zředěného roztoku vzorku (1 ml bezové šťávy zředěn destilovanou vodou ve 100 ml odměrné baňce) a směs se dále zahřívá až k varu. Var má být mírný a udržuje se přesně 2 minuty. Po 2 minutách varu se baňka ochladí proudem studené vody. Sraženina oxidu měďného klesne ke dnu a kapalina se dekantuje přes filtrační kelímek S4. Oxid měďný v baňce i ve filtračním kelímku se stále udržuje pod hladinou kapaliny. Nakonec se sraženina kvantitativně převede na fritu a dokonale se promyje horkou vodou. Potom se promyje třikrát ethanolem a nakonec etherem. Filtrační kelímek se vloží do vyhřáté sušárny a suší se přesně 45 minut při teplotě 105 °C. Po vychladnutí v exsikátoru se zváží.

Výpočet: 1 mg oxidu měďného odpovídá 0,462 mg redukcí cukrů.

3.2.3 Stanovení relativní hustoty podle ČSN EN 1131

Princip: Relativní hustota $d_{20 \text{ °C}/20 \text{ °C}}$ je hmotnost známého objemu analytického vzorku při 20 °C dělená hmotností stejného objemu odzdušněné vody při 20 °C (bezrozměrné číslo). Stanoví se pykno metrem.

Použitelnost: Metoda se používá pro stanovení hustoty všech ovocných a zeleninových šťáv.

Přístroje a pomůcky: Analytické váhy, pyknometr podle Reischauera na 50 ml s ryskou a nálevkou, termostat nebo vodní lázeň nastavitelná na 20 °C, kapilára.

Postup: Suchý pyknometr se zváží s přesností na 4 desetinná místa, naplní se těsně nad rysku od vzdušněnou vodou, uzavře se zátkou a nechá temperovat na 20 °C. Potom se výška hladiny vody upraví kapilárou tak, aby se spodní okraj menisku právě dotýkal rysky pyknometru. Prázdná část hrdla pyknometru se vysuší tamponem z filtračního papíru, pyknometr se uzavře zátkou, pečlivě osuší a zváží se s přesností na 4 desetinná místa. Po zvážení se pyknometr propláchně zkoušeným vzorkem, naplní se vzorkem těsně nad rysku a dále se postupuje jako s vodou.

Výpočet: Relativní hustota $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ vzorku se vypočítá podle vztahu:

$$d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a}$$

kde:

m_a je hmotnost prázdného pyknometru v g,

m_b je hmotnost pyknometru naplněného vodou při 20 °C v g,

m_c je hmotnost pyknometru naplněného analytickým vzorkem při 20 °C v g.

Relativní hustota $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ se vyjádří na čtyři desetinná místa.

Přesnost: Absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou jednotlivých zkoušek, provedených na stejném zkušebním materiálu jedním pracovníkem, za použití stejného zařízení, v nejkratším možném časovém intervalu nemá přesáhnout hodnotu 0,00018.

3.2.4 Stanovení hodnoty pH

Princip: Hodnota pH je záporná hodnota logaritmu koncentrace vodíkových iontů v molech na litr roztoku. Měří se potenciometricky.

Použitelnost: Metoda se používá pro stanovení hodnoty pH ovocných a zeleninových šťáv a podobných výrobků.

Chemikálie: Tlumivý roztok pH 7,00 při 20 °C, tlumivý roztok pH 10,00 při 20 °C.

Přístroje a pomůcky: pH metr, skleněná elektroda na měření pH, referenční elektroda.

Postup: Kalibrace pH metru a elektrod se provádí podle návodu výrobce přístroje. Pokud vzorek obsahuje značné množství oxidu uhličitého, zbaví se plynu protřepáním vzorku v uzavřené baňce, dokud se nepřestane uvolňovat plyn. Hodnota pH se změří podle návodu výrobce.

Výpočet: Hodnota pH se zaznamenává na dvě desetinná místa.

3.2.5 Stanovení titrační kyselosti

Princip: Titrační kyselost vyjadřuje obsah minerálních a organických kyselin a stanoví se potenciometrickou titrací standardním roztokem hydroxidu sodného do hodnoty pH 8,1.

Použitelnost: Normovaná metoda pro zjištění titrační kyselosti u ovocných a zeleninových šťáv.

Přístroje a pomůcky: pH metr s přesností 0,01 jednotky pH, elektromagnetické míchadlo, byreta na 25 ml, pipeta 25 ml, odměrná baňka 100 ml, kádinka 50 ml.

Chemikálie: Hydroxid sodný ($c = 0,25 \text{ mol l}^{-1}$), kyselina šťavelová dihydrát p.a., kalibrační roztoky k pH metru.

Postup:

Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného: Nejprve se vypočte hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebná pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci $0,1 \text{ mol l}^{-1}$. Vypočtené množství se diferenčně odváží s přesností na čtyři desetinná místa, kvantitativně se převede do odměrné baňky na 100 ml a doplní se destilovanou vodou po značku. Z tohoto roztoku se pipetuje do titrační baňky přesně 10 ml, přidají se tři kapky roztoku fenoftaleinu a titruje se odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvalého růžového zbarvení. Titrace se provádí třikrát a z průměrné spotřeby se vypočítá přesná koncentrace odměrného roztoku hydroxidu sodného.

Vlastní stanovení: 25 ml vzorku se pipetuje při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ do kádinky a titruje se za stálého míchání odměrným roztokem hydroxidu sodného do hodnoty pH 8,1.

Výpočet: Titrační kyselost vyjádřena v mmol H^+ na litr výrobku se vypočítá podle vztahu :

$$c_{\text{H}^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0}$$

kde:

V_0 je objem vzorku při titraci (25 ml),

V_1 je objem (ml) odměrného roztoku hydroxidu sodného,

C je přesná koncentrace (mol l^{-1}) roztoku hydroxidu sodného.

Titrační kyselost může být vyjádřena také obvyklým způsobem jako obsah převažující kyseliny v gramech na litr výrobku vynásobením vztahu pro výpočet c_{H^+} faktorem pro odpovídající kyselinu.

3.2.6 Stanovení formolového čísla

Princip: Po přidání roztoku formaldehydu do analytického vzorku se uvolní z každé přítomné molekuly aminokyseliny jeden ion H^+ . Tento ion je následně potenciometricky titrován roztokem hydroxidu sodného. Počet milimolů hydroxidu sodného spotřebovaného na jeden litr analytického vzorku se nazývá formolové číslo a udává celkový obsah aminokyselin (nereaguje sekundární aminoskupina histidinu a guanidinová skupina argininu, pouze částečně reagují sekundární aminoskupiny prolinu a hydroxyprolinu).

Použitelnost: Normovaná metoda pro zjištění celkového obsahu aminokyselin u ovocných a zeleninových šťáv.

Přístroje a pomůcky: pH metrs přesností nejméně 0,05 pH, elektromagnetické míchadlo, byreta na 25 ml, pipeta 25 ml, odměrná baňka 100 ml, kádinka 50 ml.

Chemikálie: Hydroxid sodný ($c = 0,25 \text{ mol l}^{-1}$), roztok formaldehydu o koncentraci 350 g l^{-1} upravený za použití pH metru na pH 8,1 standardním roztokem hydroxidu sodného (roztok musí být připravován čerstvý v den použití).

Postup: 25 ml analytického vzorku se v kádince upraví za stálého míchání roztokem hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol l}^{-1}$ na pH 8,1. Přidá se 10 ml roztoku formaldehydu a stále se míchá. Nechá se 1 minutu ustát a pak se za stálého míchání titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného do pH 8,1. Pokud spotřebovaný objem přesáhne 20 ml, titrace se opakuje s 15 ml roztoku formaldehydu.

Výpočet: Formolové číslo v ml roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol l}^{-1}$ na 100 ml analytického vzorku se vypočte podle vzorce:

$$\text{formolové číslo} = 10 \cdot n$$

kde:

n je počet ml odměrného roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol l}^{-1}$ spotřebovaného při titraci.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové

Podle reakcí, na kterých je stanovení založeno, je množství použitého NADH (tj. rozdíl absorbance A přímo úměrný koncentraci kyseliny citronové.

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$

Výpočet koncentrace analyzované látky z poklesu absorbance je založen na Lambertově-Beerově zákoně. Obsah kyseliny citronové v gramech na litr vzorku se vypočítá z následující rovnice:

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta A}{\varepsilon \cdot \delta \cdot V_2 \cdot 1000}$$

kde:

M je relativní molekulová hmotnost bezvodé kyseliny citronové = 192,1 g mol⁻¹,

V₁ je celkový objem roztoku v kyvetě v ml,

V₂ je objem roztoku vzorku přidaný do kyvety v ml,

F je faktor ředění vzorku, δ je optická dráha kyvety v cm,

ε je extinkční koeficient NADH (při 340 nm = 6,3 dm³ mmol⁻¹ cm⁻¹).

Stanovení bylo u všech vzorků provedeno dvakrát a ze získaných hodnot se vypočítal průměr.

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 08*:

Absorbance slepého vzorku A ₁	Absorbance vzorku A ₁	Absorbance slepého vzorku A ₂	Absorbance vzorku A ₂
1,2120	1,0910	1,2110	0,9710

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$
$$\Delta A = (1,091 - 0,971) - (1,212 - 1,211) = 0,119$$

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta A}{\varepsilon \cdot \delta \cdot V_2 \cdot 1000}$$

$$\rho = \frac{192,1 \cdot 3,14 \cdot 100 \cdot 0,119}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,2 \cdot 1000} = 5,70 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 09*:

Absorbance slepého vzorku A ₁	Absorbance vzorku A ₁	Absorbance slepého vzorku A ₂	Absorbance vzorku A ₂
1,3890	1,3155	1,3975	1,2075

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$
$$\Delta A = (1,3155 - 1,2075) - (1,389 - 1,3975) = 0,1165$$

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta A}{\varepsilon \cdot d \cdot V_2 \cdot 1000}$$

$$\rho = \frac{192,1 \cdot 3,14 \cdot 100 \cdot 0,1165}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,2 \cdot 1000} = 5,58 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Dana:

Absorbance slepého vzorku A ₁	Absorbance vzorku A ₁	Absorbance slepého vzorku A ₂	Absorbance vzorku A ₂
1,2320	1,2715	1,1775	1,1175

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$

$$\Delta A = (1,2715 - 1,1175) - (1,2320 - 1,1775) = 0,0995$$

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta A}{\varepsilon \cdot d \cdot V_2 \cdot 1000}$$

$$\rho = \frac{192,1 \cdot 3,14 \cdot 100 \cdot 0,0995}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,2 \cdot 1000} = 4,76 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Haschberg:

Absorbance slepého vzorku A ₁	Absorbance vzorku A ₁	Absorbance slepého vzorku A ₂	Absorbance vzorku A ₂
1,1600	1,1665	1,1580	0,8830

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$

$$\Delta A = (1,1665 - 0,8830) - (1,1600 - 1,1580) = 0,2815$$

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta A}{\varepsilon \cdot d \cdot V_2 \cdot 1000}$$

$$\rho = \frac{192,1 \cdot 3,14 \cdot 100 \cdot 0,2815}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,2 \cdot 1000} = 13,48 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti Holovous:

Absorbance slepého vzorku A ₁	Absorbance vzorku A ₁	Absorbance slepého vzorku A ₂	Absorbance vzorku A ₂
1,2710	1,2065	1,2655	0,9500

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$

$$\Delta A = (1,2065 - 0,9500) - (1,2710 - 1,2655) = 0,251$$

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta A}{\varepsilon \cdot d \cdot V_2 \cdot 1000}$$

$$\rho = \frac{192,1 \cdot 3,14 \cdot 100 \cdot 0,251}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,2 \cdot 1000} = 12,02 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti Padochov:

Absorbance slepého vzorku A ₁	Absorbance vzorku A ₁	Absorbance slepého vzorku A ₂	Absorbance vzorku A ₂
1,2160	1,1735	1,2015	0,9215

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{vzorku}} - (A_1 - A_2)_{\text{slepého pokusu}}$$

$$\Delta A = (1,1735 - 0,9215) - (1,2160 - 1,2015) = 0,2375$$

$$\rho = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta A}{\varepsilon \cdot d \cdot V_2 \cdot 1000}$$

$$\rho = \frac{192,1 \cdot 3,14 \cdot 100 \cdot 0,2375}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,2 \cdot 1000} = 11,37 \text{ g l}^{-1}$$

Shrnutí:

Odrůda	Obsah kyseliny citronové (g l ⁻¹)
Albida 08	5,70
Albida 09	5,58
Dana	4,76
Haschberg	13,48
Planý Holovousy	12,02
Planý Padochov	11,37

Enzymaticky byl stanoven obsah kyseliny citronové ve vzorcích, přičemž se koncentrace kyseliny pohybovala v rozmezí 4,76–13,48 g l⁻¹. Nejbohatší kultivar bezu na kyselinu citronovou je podle našeho stanovení odrůda Haschberg naopak nejméně kyseliny citronové bylo naměřeno u odrůdy Dana. Veberic et al. [2] uvádí hodnoty 3,08 až 4,81 g kg⁻¹, naše hodnoty jsou tedy poněkud vyšší. Nejbohatší odrůda na kyselinu citronovou však byla v obou experimentech stejná, a to odrůda Haschberg.

4.2 Gravimetrické stanovení redukcí cukrů

1 mg oxidu měďného odpovídá 0,462 mg redukcí cukrů.

Stanovení bylo u všech vzorků provedeno třikrát a ze získaných hodnot se vypočítal průměr.

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Albida 08:

Navážka vzorku m _n (g)	1,0387
Hmotnost prázdného filtračního kelímku m _k (g)	28,5391
Hmotnost kelímku s Cu ₂ O m _{k+oxid} (g)	28,5824

Množství oxidu měďného:

$$m_{\text{oxid}} = m_{\text{oxid}} - m_k = 28,5824 - 28,5391 = 0,0433 \text{ g}$$

$$0,001 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots 0,462 \text{ mg redukcí cukrů}$$

$$0,0433 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots m_f \text{ mg redukcí cukrů v gravimetrickém vzorku}$$

$$m_f = 20,0185 \text{ mg}$$

Vzorek na gravimetrii obsahuje 1/5 původní navážky:

$$m_g = m_r \cdot 5$$

$$m_g = 20,0185 \cdot 5 = 100,092 \text{ mg}$$

Obsah redukujících cukrů ve vzorku:

$$w_r = \frac{m_g}{m_n} \cdot 100\%$$

$$w_r = \frac{100,092 \cdot 10^{-3}}{1,0387} \cdot 100\% = 0,09637 \cdot 100\% = 9,64\%$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 09*:

Navážka vzorku m_n (g)	1,0060
Hmotnost prázdného filtračního kelímku m_k (g)	14,0669
Hmotnost kelímku s Cu_2O $m_{k+\text{oxid}}$ (g)	14,0953

Množství oxidu měďného:

$$m_{\text{oxid}} = m_{\text{oxid}} - m_k = 14,0953 - 14,0669 = 0,0284 \text{ g}$$

$$0,001 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots 0,462 \text{ mg redukujících cukrů}$$

$$\underline{0,0284 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots m_r \text{ mg redukujících cukrů v gravimetrickém vzorku}}$$

$$m_r = 13,1208 \text{ mg}$$

Vzorek na gravimetrii obsahuje 1/5 původní navážky:

$$m_g = m_r \cdot 5$$

$$m_g = 13,1208 \cdot 5 = 65,604 \text{ mg}$$

Obsah redukujících cukrů ve vzorku:

$$w_r = \frac{m_g}{m_n} \cdot 100\%$$

$$w_r = \frac{65,604 \cdot 10^{-3}}{1,0060} \cdot 100\% = 0,06521 \cdot 100\% = 6,52\%$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Dana*:

Navážka vzorku m_n (g)	1,0765
Hmotnost prázdného filtračního kelímku m_k (g)	33,8996
Hmotnost kelímku s Cu_2O $m_{k+\text{oxid}}$ (g)	33,9219

Množství oxidu měďného:

$$m_{\text{oxid}} = m_{\text{oxid}} - m_k = 33,9219 - 33,8996 = 0,0223 \text{ g}$$

$$0,001 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots 0,462 \text{ mg redukujících cukrů}$$

$$\underline{0,0223 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots m_r \text{ mg redukujících cukrů v gravimetrickém vzorku}}$$

$$m_r = 10,3180 \text{ mg}$$

Vzorek na gravimetrii obsahuje 1/5 původní navážky:

$$m_g = m_r \cdot 5$$

$$m_g = 10,3180 \cdot 5 = 51,590 \text{ mg}$$

Obsah redukujících cukrů ve vzorku:

$$w_r = \frac{m_g}{m_n} \cdot 100\%$$

$$w_r = \frac{51,590 \cdot 10^{-3}}{1,0060} \cdot 100\% = 0,06521 \cdot 100\% = 6,52\%$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Haschberg*:

Navážka vzorku m_n (g)	1,0365
Hmotnost prázdného filtračního kelímku m_k (g)	21,3078
Hmotnost kelímku s Cu_2O $m_{k+\text{oxid}}$ (g)	21,3360

Množství oxidu měďného:

$$m_{\text{oxid}} = m_{\text{oxid}} - m_k = 21,3078 - 21,3360 = 0,0282 \text{ g}$$

$$\begin{array}{l} 0,001 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots 0,462 \text{ mg redukujících cukrů} \\ 0,0282 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots m_r \text{ mg redukujících cukrů v gravimetrickém vzorku} \\ \hline m_r = 13,0438 \text{ mg} \end{array}$$

Vzorek na gravimetrii obsahuje 1/5 původní navážky:

$$m_g = m_r \cdot 5$$

$$m_g = 13,0438 \cdot 5 = 65,219 \text{ mg}$$

Obsah redukujících cukrů ve vzorku:

$$w_r = \frac{m_g}{m_n} \cdot 100\%$$

$$w_r = \frac{65,219 \cdot 10^{-3}}{1,0060} \cdot 100\% = 0,06292 \cdot 100\% = 6,29\%$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti *Holovous*:

Navážka vzorku m_n (g)	0,9929
Hmotnost prázdného filtračního kelímku m_k (g)	14,0659
Hmotnost kelímku s Cu_2O $m_{k+\text{oxid}}$ (g)	14,0938

Množství oxidu měďného:

$$m_{\text{oxid}} = m_{\text{oxid}} - m_k = 14,0938 - 14,0659 = 0,0279 \text{ g}$$

$$\begin{array}{l} 0,001 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots 0,462 \text{ mg redukujících cukrů} \\ 0,0279 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots m_r \text{ mg redukujících cukrů v gravimetrickém vzorku} \\ \hline m_r = 12,8744 \text{ mg} \end{array}$$

Vzorek na gravimetrii obsahuje 1/5 původní navážky:

$$m_g = m_r \cdot 5$$

$$m_g = 12,8744 \cdot 5 = 64,372 \text{ mg}$$

Obsah redukujících cukrů ve vzorku:

$$w_r = \frac{m_g}{m_n} \cdot 100\%$$

$$w_r = \frac{64,372 \cdot 10^{-3}}{1,0060} \cdot 100\% = 0,06483 \cdot 100\% = 6,48\%$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti Padochov:

Navážka vzorku m_n (g)	1,0649
Hmotnost prázdného filtračního kelímku m_k (g)	21,3076
Hmotnost kelímku s Cu_2O $m_{k+\text{oxid}}$ (g)	21,3512

Množství oxidu měďného:

$$m_{\text{oxid}} = m_{\text{oxid}} - m_k = 21,3512 - 21,3076 = 0,0436 \text{ g}$$

$$\begin{array}{l} 0,001 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots 0,462 \text{ mg redukujících cukrů} \\ \underline{0,0436 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots m_r \text{ mg redukujících cukrů v gravimetrickém vzorku}} \\ m_r = 20,1586 \text{ mg} \end{array}$$

Vzorek na gravimetrii obsahuje 1/5 původní navážky:

$$m_g = m_r \cdot 5$$

$$m_g = 20,1586 \cdot 5 = 100,793 \text{ mg}$$

Obsah redukujících cukrů ve vzorku:

$$w_r = \frac{m_g}{m_n} \cdot 100\%$$

$$w_r = \frac{100,793 \cdot 10^{-3}}{1,0060} \cdot 100\% = 0,09465 \cdot 100\% = 9,47\%$$

Množství oxidu měďného:

$$m_{\text{oxid}} = m_{\text{oxid}} - m_k = 14,0938 - 14,0659 = 0,0279 \text{ g}$$

$$\begin{array}{l} 0,001 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots 0,462 \text{ mg redukujících cukrů} \\ \underline{0,0279 \text{ g Cu}_2\text{O} \dots\dots\dots m_r \text{ mg redukujících cukrů v gravimetrickém vzorku}} \\ m_r = 12,8744 \text{ mg} \end{array}$$

Vzorek na gravimetrii obsahuje 1/5 původní navážky:

$$m_g = m_r \cdot 5$$

$$m_g = 12,8744 \cdot 5 = 64,372 \text{ mg}$$

Obsah redukujících cukrů ve vzorku:

$$w_r = \frac{m_g}{m_n} \cdot 100\%$$

$$w_r = \frac{64,372 \cdot 10^{-3}}{1,0060} \cdot 100\% = 0,06483 \cdot 100\% = 6,48\%$$

Shrnutí:

Odrůda	Obsah redukujících cukrů (%)
Albida 08	9,64
Albida 09	6,52
Dana	4,79
Haschberg	6,29
Planý Holovousy	6,48
Planý Padochov	9,47

Gravimetrickým stanovením byl určen obsah redukujících cukrů, jednotlivé kultivary se obsahem cukrů poměrně hodně lišily. Byly naměřeny hodnoty od 4,79 do 9,64 hm. %. Největší obsah byl zaznamenán u odrůdy Albida sběr roku 2008. Na obsah cukrů má podle všeho velký vliv počasí, protože u též odrůdy, kde se plody sbíraly o rok později z téhož stromu, byl obsah cukrů jen 6,52 hm. %. Nejmenší obsah cukrů byl naměřen rovněž u odrůdy Dana. V analýze Veberic et al. [2] se pohybuje obsah cukrů od 68,53 g kg⁻¹ do 104,16 g kg⁻¹. Hodnoty jsou srovnatelné s našimi výsledky, i když dolní hranice je u naší analýzy poněkud nižší a to 51,59 g kg⁻¹.

4.3 Stanovení relativní hustoty podle ČSN EN 1131

Relativní hustota $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ vzorku se vypočítá podle vztahu

$$d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a}$$

kde:

m_a je hmotnost prázdného pyknometru v g,

m_b je hmotnost pyknometru naplněného vodou při 20 °C v g,

m_c je hmotnost pyknometru naplněného analytickým vzorkem při 20 °C v g.

Relativní hustota $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ se vyjádří na čtyři desetinná místa.

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 08*:

Vážením byly naměřeny tyto hodnoty:

Stanovení č.	1	2	3	průměr
Hmotnost prázdného pyknometru m_a (g)	31,6107	31,6109	31,6108	31,6108
Hmotnost pyknometru s vodou m_b (g)	81,3970	83,3966	83,3968	82,7301
Hmotnost pyknometru se vzorkem m_c (g)	83,9470	83,9471	83,9470	83,9470

$$d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} = \frac{83,9470 - 31,6108}{82,7301 - 31,6108} = 1,0238$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 09*:

Vážením byly naměřeny tyto hodnoty:

Stanovení č.	1	2	3	průměr
Hmotnost prázdného pyknometru m_a (g)	31,6107	31,6109	31,6108	31,6108
Hmotnost pyknometru s vodou m_b (g)	81,3970	83,3966	83,3968	82,7301
Hmotnost pyknometru se vzorkem m_c (g)	83,9470	83,9471	83,9470	83,4924

$$d_{20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} = \frac{83,4924 - 31,6108}{82,7301 - 31,6108} = 1,0149$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Dana*:

Vážením byly naměřeny tyto hodnoty:

Stanovení č.	1	2	3	průměr
Hmotnost prázdného pyknometru m_p (g)	31,6107	31,6109	31,6108	31,6108
Hmotnost pyknometru s vodou m_{p+voda} (g)	81,3970	83,3966	83,3968	82,7301
Hmotnost pyknometru se vzorkem m_{p+vz} (g)	83,6044	83,6043	83,6042	83,6043

$$d_{20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} = \frac{83,6043 - 31,6108}{82,7301 - 31,6108} = 1,0171$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Haschberg*:

Vážením byly naměřeny tyto hodnoty:

Stanovení č.	1	2	3	průměr
Hmotnost prázdného pyknometru m_a (g)	31,6107	31,6109	31,6108	31,6108
Hmotnost pyknometru s vodou m_b (g)	81,3970	83,3966	83,3968	82,7301
Hmotnost pyknometru se vzorkem m_c (g)	83,7536	83,7535	83,7535	83,7535

$$d_{20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} = \frac{83,7535 - 31,6108}{82,7301 - 31,6108} = 1,0200$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti *Holovous*:

Vážením byly naměřeny tyto hodnoty:

Stanovení č.	1	2	3	průměr
Hmotnost prázdného pyknometru m_a (g)	31,6107	31,6109	31,6108	31,6108
Hmotnost pyknometru s vodou m_b (g)	81,3970	83,3966	83,3968	82,7301
Hmotnost pyknometru se vzorkem m_c (g)	83,7788	83,7786	83,7786	83,7787

$$d_{20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} = \frac{83,7787 - 31,6108}{82,7301 - 31,6108} = 1,0205$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti Padochov:

Vážením byly naměřeny tyto hodnoty:

Stanovení č.	1	2	3	průměr
Hmotnost prázdného pyknometru m_a (g)	31,6107	31,6109	31,6108	31,6108
Hmotnost pyknometru s vodou m_b (g)	81,3970	83,3966	83,3968	82,7301
Hmotnost pyknometru se vzorkem m_c (g)	84,4505	84,4504	84,4503	84,4504

$$d_{20\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} = \frac{84,4504 - 31,6108}{82,7301 - 31,6108} = 1,0337$$

Shrnutí:

Odrůda	Relativní hustota
Albida 08	1,0238
Albida 09	1,0149
Dana	1,0171
Haschberg	1,0200
Planý Holovousy	1,0205
Planý Padochov	1,0337

Rozptyl hodnoty relativní hustoty není velký, hodnoty se lišily jen nepatrně a pohybovaly se v rozmezí od 1,0149 u odrůdy Albida sběr roku 2009, do 1,0337 u planého bezu z okolí Padochova.

4.4 Stanovení hodnoty pH

Stanovení bylo provedeno u všech vzorků dvakrát, z naměřených hodnot byl vypočítán průměr.

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Albida 08:

číslo měření	hodnota pH
1	4,85
2	4,84
průměr	4,85

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Albida 09:

číslo měření	hodnota pH
1	4,63
2	4,62
průměr	4,63

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Dana:

číslo měření	hodnota pH
1	4,00
2	3,99
průměr	4,00

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Haschberg*:

číslo měření	hodnota pH
1	3,60
2	3,63
průměr	3,62

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti *Holovous*:

číslo měření	hodnota pH
1	3,95
2	3,92
průměr	3,94

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti *Padochov*:

číslo měření	hodnota pH
1	4,37
2	4,36
průměr	4,37

Shrnutí:

Odrůda	Hodnota pH
Albida 08	4,85
Albida 09	4,63
Dana	4,00
Haschberg	3,62
Planý Holovousy	3,94
Planý Padochov	4,37

Hodnoty pH se u všech vzorků pohybovaly v mírně kyselé oblasti a to od hodnoty 3,62 do 4,85. Kaack et al. [17] uvádí hodnoty pH od 3,5 do 4,9.

4.5 Stanovení titrační kyselosti*Standardizace odměrného roztoku NaOH:*

Teoretická navážka $H_2C_2O_4$ pro přípravu odměrného roztoku o koncentraci $0,1 \text{ mol l}^{-1}$:

$$M_{H_2C_2O_4} = 126,07 \text{ g mol}^{-1}$$

$$V_{H_2C_2O_4} = 0,1 \text{ dm}^3$$

$$c_{H_2C_2O_4 \text{ teoretická}} = 0,1 \text{ mol l}^{-1}$$

$$m_{H_2C_2O_4 \text{ teoretická}} = c_{H_2C_2O_4} \cdot V_{H_2C_2O_4} \cdot M_{H_2C_2O_4} = 0,1 \cdot 0,1 \cdot 126,07 = 1,2607 \text{ g}$$

Skutečná navážka $H_2C_2O_4$:

$$m_{H_2C_2O_4} = 1,2623 \text{ g}$$

Skutečná koncentrace $H_2C_2O_4$:

$$c_{H_2C_2O_4} = \frac{m_{H_2C_2O_4}}{M_{H_2C_2O_4} \cdot V_{H_2C_2O_4}} = \frac{1,2623}{126,07 \cdot 0,1} = 0,1001 \text{ mol l}^{-1}$$

Titrace byla provedena třikrát a z průměrné hodnoty byla vypočítána koncentrace NaOH.

číslo titrace	spotřeba (ml)
1	8,0
2	7,9
3	8,0
průměr	7,97

Standardizace NaOH: $(\text{COOH})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{NaOH} \leftrightarrow (\text{COONa})_2 + 4 \text{H}_2\text{O}$

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{2 \cdot c_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} \cdot V_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4}}{V_{\text{NaOH}}} = \frac{2 \cdot 1,001 \cdot 10}{7,97} = 0,2512 \text{ mol l}^{-1}$$

Stanovení titrační kyselosti – potenciometrická titrace

Titrační kyselost vyjádřena v mmol H^+ na litr výrobku se vypočítá podle vztahu :

$$c_{\text{H}^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0}$$

kde:

V_0 je objem vzorku při titraci (25 ml),

V_1 je objem (ml) odměrného roztoku hydroxidu sodného,

C je přesná koncentrace (mol l^{-1}) roztoku hydroxidu sodného.

Titrace byla provedena u všech vzorků dvakrát a z průměrné spotřeby byla vypočítána titrační kyselost.

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 08*:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	5,4
2	5,4
průměr	5,40

$$c_{\text{H}^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} = \frac{1000 \cdot 5,4 \cdot 0,2512}{25} = 54,2592 \text{ mmol l}^{-1}$$

$$m = c_{\text{H}^+} \cdot f = 54,2592 \cdot 0,064 = 3,47 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 09*:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	5,6
2	5,7
průměr	5,65

$$c_{\text{H}^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} = \frac{1000 \cdot 5,65 \cdot 0,2512}{25} = 56,7712 \text{ mmol l}^{-1}$$

$$m = c_{\text{H}^+} \cdot f = 56,7712 \cdot 0,064 = 3,63 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Dana:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	13,9
2	14,0
průměr	13,95

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} = \frac{1000 \cdot 13,95 \cdot 0,2512}{25} = 140,1696 \text{ mmol l}^{-1}$$

$$m = c_{H^+} \cdot f = 140,1696 \cdot 0,064 = 8,97 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda Haschberg:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	20,5
2	20,3
průměr	20,40

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} = \frac{1000 \cdot 20,4 \cdot 0,2512}{25} = 204,9792 \text{ mmol l}^{-1}$$

$$m = c_{H^+} \cdot f = 204,9792 \cdot 0,064 = 13,12 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti Holovous:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	18,0
2	18,2
průměr	18,10

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} = \frac{1000 \cdot 18,1 \cdot 0,2512}{25} = 181,8688 \text{ mmol l}^{-1}$$

$$m = c_{H^+} \cdot f = 181,8688 \cdot 0,064 = 11,64 \text{ g l}^{-1}$$

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti Padochov:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	11,3
2	11,2
průměr	11,25

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} = \frac{1000 \cdot 11,25 \cdot 0,2512}{25} = 113,0400 \text{ mmol l}^{-1}$$

$$m = c_{H^+} \cdot f = 113,0400 \cdot 0,064 = 7,23 \text{ g l}^{-1}$$

Shrnutí:

Odrůda	hodnota titrační kyselosti (g l ⁻¹)
Albida 08	3,47
Albida 09	3,63
Dana	8,97
Haschberg	13,12
Planý Holovousy	11,64
Planý Padochov	7,23

Celkový obsah minerálních a organických kyselin (titrační kyselost) v našem experimentu se lišil v závislosti na odrůdě. Nejméně kyselin obsahuje odrůda Albida, a to v obou sběrech, jak roku 2008, tak i roku 2009. Naopak nejbohatší odrůdou na kyseliny je kultivar Haschberg, u kterého byly naměřeny hodnoty 13,12 g l⁻¹. V experimentu Kaacka et al. [10] se pohybuje celkový obsah kyselin v rozmezí od 0,5 do 1,7 g kg⁻¹, výsledky se od našich hodnot značně liší. Dále se nám ke srovnání nabízí výsledky Roberta Vebericka, jehož výsledky sice zahrnují pouze organické kyseliny, ale jsou našim výsledkům podstatně bližší. Koncentrace kyselin se v této práci pohybovaly od 4,52 g kg⁻¹ do 6,38 g kg⁻¹.

4.6 Stanovení formolového čísla

Formolové číslo v ml roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol l}^{-1}$ na 100 ml analytického vzorku se vypočte podle vzorce:

$$\text{formolové číslo} = 10 \cdot n$$

kde:

n je počet ml odměrného roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol l}^{-1}$ spotřebovaného při titraci.

Titrace byla provedena dvakrát a z průměrné hodnoty se počítala hodnota formolového čísla.

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 08*:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	4,0
2	4,1
průměr	4,05

Přepočet koncentrace 0,2512 mol l⁻¹ roztoku NaOH na 0,25 mol l⁻¹ roztoku NaOH:

4,05 ml0,2512 mol l⁻¹ NaOH

x ml0,2500 mol l⁻¹ NaOH

$$x = 4,0307$$

formolové číslo = $10 \cdot n = 10 \cdot 4,0307 = 40,31 \text{ ml } 0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaOH}/100 \text{ ml vzorku}$

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Albida 09*:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	4,2
2	4,2
průměr	4,20

Přepoččet koncentrace 0,2512 mol l⁻¹ roztoku NaOH na 0,25 mol l⁻¹ roztoku NaOH:
 4,2 ml0,2512 mol l⁻¹ NaOH
 x ml0,2500 mol l⁻¹ NaOH

$$\frac{4,2 \cdot 0,2512}{0,2500} = x$$
 x = 4,1799

formolové číslo = 10 · n = 10 · 4,1799 = 41,78 ml 0,1 mol l⁻¹ NaOH/100 ml vzorku

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Dana*:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	4,0
2	3,9
průměr	3,95

Přepoččet koncentrace 0,2512 mol l⁻¹ roztoku NaOH na 0,25 mol l⁻¹ roztoku NaOH:
 3,95 ml0,2512 mol l⁻¹ NaOH
 x ml0,2500 mol l⁻¹ NaOH

$$\frac{3,95 \cdot 0,2512}{0,2500} = x$$
 x = 3,9311

formolové číslo = 10 · n = 10 · 3,9311 = 39,31 ml 0,1 mol l⁻¹ NaOH/100 ml vzorku

Šťáva z plodů šlechtěného bezu odrůda *Haschberg*:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	1,2
2	1,4
průměr	1,30

Přepoččet koncentrace 0,2512 mol l⁻¹ roztoku NaOH na 0,25 mol l⁻¹ roztoku NaOH:
 1,3 ml0,2512 mol l⁻¹ NaOH
 x ml0,2500 mol l⁻¹ NaOH

$$\frac{1,3 \cdot 0,2512}{0,2500} = x$$
 x = 1,2938

formolové číslo = 10 · n = 10 · 1,2938 = 12,94 ml 0,1 mol l⁻¹ NaOH/100 ml vzorku

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti *Holovous*:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	2,6
2	2,6
průměr	2,60

Přepoččet koncentrace 0,2512 mol l⁻¹ roztoku NaOH na 0,25 mol l⁻¹ roztoku NaOH:
 2,6 ml0,2512 mol l⁻¹ NaOH
 x ml0,2500 mol l⁻¹ NaOH

$$\frac{2,6 \cdot 0,2512}{0,2500} = x$$
 x = 2,5876

formolové číslo = $10 \cdot n = 10 \cdot 2,5876 = 25,88$ ml $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH/100 ml vzorku

Šťáva z plodů planého bezu z oblasti Padochov:

číslo titrace	spotřeba NaOH
1	6,0
2	5,9
průměr	5,95

Přepočet koncentrace $0,2512 \text{ mol l}^{-1}$ roztoku NaOH na $0,25 \text{ mol l}^{-1}$ roztoku NaOH:

5,95 ml $0,2512 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH

x ml $0,2500 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH

$$x = 5,9216$$

formolové číslo = $10 \cdot n = 10 \cdot 5,9216 = 59,22$ ml $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH/100 ml vzorku

Výsledky:

Odrůda	Hodnota formolového čísla
Albida 08	40,3
Albida 09	41,8
Dana	39,3
Haschberg	12,9
Planý Holovousy	25,8
Planý Padochov	59,2

Hodnoty formolového čísla se pohybují v rozmezí 12,9–59,2. Formolové číslo udává celkový obsah aminokyselin ve vzorku.

5 ZÁVĚR

Byly stanoveny vybrané chemické parametry u několika vyšlechtěných odrůd černého bezu a pro srovnání byly do analýzy zařazeny i dva plané vzorky z různých míst. Na kvalitu plodů má evidentně vliv nejen místo a zemina ve které keř roste, ale také počasí, které ovlivňuje především obsah cukrů, což můžeme porovnat u odrůdy *Albida*, u které byly k dispozici vzorky ze dvou let následujících po sobě.

Enzymatickým stanovením byl určen obsah kyseliny citronové ve všech vzorcích. Nejvyšší obsah byl zaznamenán u odrůdy *Haschberg* a to $13,48 \text{ g l}^{-1}$ nejmenší obsah kyseliny byl pak stanoven u odrůdy *Dana* $4,76 \text{ g l}^{-1}$.

Gravimetrickým stanovením redukujících cukrů bylo určeno, že nejvyšší obsah cukrů má odrůda *Albida 08* (9,64%) společně s planou formou bezu z oblasti Padochova (9,47%), nejméně cukrů pak bylo stanoveno opět u odrůdy *Dana* (4,79%).

Dále byla stanovena relativní hustota podle ČSN EN 1131. Relativní hustota se u všech vzorků příliš nelišila, nabývala hodnot od 1,0149 u odrůdy *Albida 09* do 1,0337 u plané formy bezu z okolí Padochova.

Hodnoty pH byly změřeny na kalibrovaném pHmetru a pohybovaly se v rozmezí od 3,62 u odrůdy *Haschberg* až po 4,85 u odrůdy *Albida 08*.

Stanovení titrační kyselosti udává celkový obsah jak organických tak minerálních kyselin. Nejvyšší titrační kyselost byla stanovena u odrůdy *Haschberg* $13,12 \text{ g l}^{-1}$, nejmenší obsah kyselin byl stanoven u odrůdy *Albida 08* $3,47 \text{ g l}^{-1}$.

Posledním zkoumaným parametrem je formolové číslo, které udává celkový obsah aminokyselin ve vzorku. Nejmenší obsah byl stanoven u odrůdy *Haschberg* $12,9 \text{ ml } 0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaOH}/100 \text{ ml}$ vzorku, naopak největší obsah aminokyselin byl stanoven u plané formy bezu z okolí Padochova a to $59,2 \text{ ml } 0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaOH}/100 \text{ ml}$ vzorku.

6 LITERATURA

- [1] JANČA, J., ZENTRICH, J. A. *Herbář léčivých rostlin*. 1. vyd. Praha : Eminent, 1994. 288 s. ISBN 80-85876-02-7.
- [2] VEBERIC, R., JAKOPIC, J. STAMPAR, F., SCHMITZER, V. European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food chemistry*. 2009, 114, 511-515.
- [3] HEMGESBERG, H. *Černý bez a naše zdraví*. Olomouc : Fontána, 2002. 158 s. ISBN 80-86179-98-2.
- [4] NEUBAUER, Š. KLIMEŠ, K. ČERNÁ, L. *Léčivé rostliny II : sbírané léčivé rostliny*. 1. vyd. Praha : Svépomoc, 1986. 183 s.
- [5] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*, Tábor: OSSIS 1999, ISBN 80-902391-5-3.
- [6] GRAU, J. JUNG, R. MÜNKER, B. *Bobulovité, užitkové a léčivé rostliny*. Praha : Ikar, 1996. 287 s. ISBN 80-7202-023-4.
- [7] ODY, P. *Velký atlas léčivých rostlin*. 2. vyd. Praha : Euromedia group, 2004. 192 s. ISBN 80-242-1259-5.
- [8] HLAVA, B., VALÍČEK, P. *Léčivé byliny : rady pěstitelům*. 2. vyd. Praha : Aventinum, 2005. 191 s. ISBN 80-7151-249-4.
- [9] *Www.botany.cz* [online]. [cit. 2010-11-05]. Dostupný z WWW: <<http://botany.cz/cs/sambucus-ebulus/>>
- [10] KAACK, K., FRETTE, X. C., CHRISTENSEN, L. P., LANDBO, A. K., MEYER, A. S. Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best suited for preparation of juice. *European Food Research and Technology*. 2007, 226, 843-855.
- [11] AKBULUT, M., ERCISLI, S., TOSUN, M. Physico-chemical characteristics of some wild grown European elderberry. *Pharmacognosy Magazine*. 2009, 5, 320-323.
- [12] ČSN EN 1131: 1996. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení relativní hustoty*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [13] ČSN EN 1131: 1996. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení hodnoty pH*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [14] ČSN EN 1131: 1996. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení titrační kyselosti*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [15] ČSN EN 1131: 1996. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení formolového čísla*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [16] HRSTKA, M., VESPALCOVÁ, M.. *Praktikum z analytické chemie potravin*. Brno 2006. 58s. Dostupný z WWW: <<http://www.vutbr.cz/elearning/course/view.php?id=89961>>

[17] KAACK, K., CHRISTENSEN, L. P., HUGES, M., EDER, R. The relationship between sensory quality and volatile compounds in raw juice processed from elderberries (*Sambucus nigra* L.). *European Food Research and Technology*. 2005, 221, 244-254.