

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

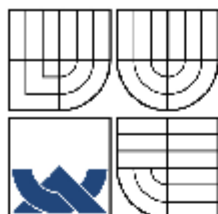
ZMĚNY OBSAHU AKTIVNÍCH LÁTEK V PLODECH JABLEK A HRUŠEK
V PRŮBĚHU UCHOVÁVÁNÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

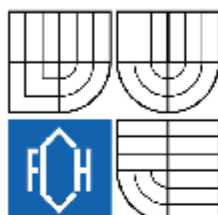
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

MARKÉTA MATĚJKOVÁ

BRNO 2009



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

ZMĚNY OBSAHU AKTIVNÍCH LÁTEK V PLODECH JABLEK A HRUŠEK V PRŮBĚHU UCHOVÁVÁNÍ

CHANGES OF THE CONTENT OF SOME ACTIVE SUBSTANCES IN APPLE AND PEAR FRUITS
DURING STORAGE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

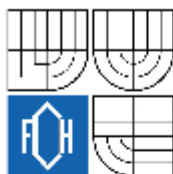
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

MARKÉTA MATĚJKOVÁ

VEDOUcí PRÁCE
SUPERVISOR

doc. RNDr. IVANA MÁROVÁ, CSc.

BRNO 2009



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

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0358/2008** Akademický rok: **2008/2009**
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student(ka): **Markéta Matějková**
Studijní program: **Chemie a technologie potravin (B2901)**
Studijní obor: **Potravinářská chemie (2901R021)**
Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.**
Konzultanti bakalářské práce:

Název bakalářské práce:

Změny obsahu aktivních látek v plodech jablek a hrušek v průběhu uchovávání

Zadání bakalářské práce:

1. Rašerše - tuzemské druhy ovoce se zaměřením na jablka a hrušky, přehled odrůd, nutriční hodnota, hlavní skupiny biologicky aktivních látek.
2. Optimalizace metod stanovení vybraných aktivních látek, zejména antioxidantů a vitamínů.
3. Sledování změn složení plodů jablek a hrušek v průběhu uchovávání v různých podmínkách.

Termín odevzdání bakalářské práce: 29.5.2009

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

Markéta Matějková
Student(ka)

doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Reditel ústavu

V Brně, dne 1.12.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

V předložené bakalářské práci jsou popsány nízkomolekulární antioxidanty obsažené v různých druzích rostlinného materiálu. Bližší pozornost je věnována antioxidantům přítomným v jablkách a v hruškách a změnám jejich obsahu v závislosti na podmínkách skladování. Blíže jsou specifikovány odrůdy studované v této bakalářské práci. Dále je teoretická část zaměřena na dozrávání a následné skladování plodů. Jsou zde popsány i nejznámější skladové choroby, které způsobují poškození skladovaných jablek a hrušek.

V praktické části byly sledovány změny obsahu vybraných antioxidantů v plodech jablek Idared (červeno-žlutá odrůda) a Golden Delicious (zeleno-žlutá odrůda), které byly uchovávány po dobu 2 měsíců ve třech různých prostředích - v laboratoři při pokojové teplotě, ve sklepě a v lednici. U takto skladovaných jablek byly v týdenních intervalech odebrány vzorky a porovnávány hodnoty nízkomolekulárních antioxidantů (vitaminu C, celkových polyfenolů, celkových flavonoidů) a celkové antioxidační aktivity. Na povrchu jablek byla po celou dobu skladování sledována povrchová mikroflóra. Jako nejvhodnější z uvedených prostředí se jeví skladování ve sklepě (9 °C, 38,4 %). Změny obsahu polyfenolů v plodech byly méně výrazné než změny obsahu flavonoidů, zatímco obsah askorbátu výrazně klesal s délkou uchovávání. Antioxidační aktivita zaznamenává zejména průběh změn koncentrace askorbátu, ale na hodnotách jsou patrné i vlivy změn fenolických látek. Pro srovnání byly sledovány uvedené parametry i v hruškách, které však bylo možné uchovat jen velmi krátkou dobu.

ABSTRACT

In presented bachelor thesis low molecular substances antioxidants found in plant food were described. Antioxidants from apples and pears were studied in detail, particularly their changes during storage in different conditions. Fruit species were described more closely in this study. The theoretical part is focused on ripening and storage of the fruits. The most common diseases of apples and pears are introduced too.

In the practical part changes of some antioxidant levels in apples Idared (red-yellow) and Golden Delicious (green-yellow) were analyzed. Apples were stored for 2 months in three various storage conditions – at standard ambient temperature in the lab, in cellar and in refrigerator. In regular intervals samples were taken and levels of low molecular antioxidants (vitamin C, total phenolics, total flavonoids) and total antioxidant activity in apple fruits were analysed and compared. A surface microflora of the apples was analysed during the whole storage time. The most suitable storage conditions exhibited cellar (9 °C, 38,4 %). Phenolic changes in apples were substantially lower than flavonoid changes, while ascorbate content decreased dramatically with the storage time. Antioxidant activity was related mainly to ascorbate levels, influence of flavonoid changes was observed too. Antioxidant parameters were analyzed also in pear fruits, whose were stored only for very short time.

KLÍČOVÁ SLOVA

Jablka a hrušky, antioxidanty, celková antioxidační aktivita, celkové polyfenoly, celkové flavonoidy

KEY WORDS

Apple and pear, antioxidants, total antioxidant status, total polyphenols, total flavonoids

MATĚJKOVÁ, M. *Změny obsahu aktivních látek v plodech jablek a hrušek v průběhu uchovávání*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. XY s. Vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.

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

Chtěla bych především poděkovat Doc. RNDr. Ivaně Márové, CSc. za vedení a pomoc při vzniku této bakalářské práce, ing. Kateřině Duroňové za pomoc při experimentální práci a při zpracování výsledků, dále Miroslavu Skutkovi za pomoc při zpracování výsledků.

OBSAH

1	Úvod.....	14
2	Teoretická část.....	15
2.1	Volné radikály.....	15
2.2	Obrana proti volným radikálům.....	15
2.2.1	Primární antioxidanty.....	15
2.2.2	Sekundární antioxidanty.....	15
2.3	Nízkomolekulární antioxidanty.....	15
2.3.1	Vitamin C.....	15
2.3.2	Tokoferoly.....	16
2.3.3	Karotenoidy.....	16
2.3.4	Polyfenoly.....	16
2.3.5	Flavonoidy.....	17
2.4	Odrůdy jablek.....	17
2.4.1	Golden Delicious.....	17
2.4.2	Idared.....	17
2.5	Senzoricky významné těkavé aromatické látky.....	18
2.5.1	Jablka.....	18
2.5.2	Hrušky.....	18
2.6	Dozrávání ovoce.....	18
2.7	Skladování ovoce.....	18
2.7.1	Předčasná sklizeň.....	18
2.7.2	Pozdní sklizeň.....	18
2.7.3	Dýchání plodů.....	19
2.7.3.1	<i>Klimakterický typ.....</i>	<i>19</i>
2.7.3.2	<i>Vliv teploty na intenzitu dýchání.....</i>	<i>19</i>
2.7.4	Změny zásobních látek.....	20
2.7.4.1	<i>Jednoduché cukry.....</i>	<i>20</i>
2.7.4.2	<i>Složky buněčné stěny.....</i>	<i>20</i>
2.7.4.3	<i>Změny obsahu organických kyselin.....</i>	<i>20</i>
2.7.5	Fyziologická onemocnění ovoce.....	20
2.7.5.1	<i>Spála.....</i>	<i>21</i>
2.7.5.2	<i>Křenčení.....</i>	<i>21</i>
2.7.5.3	<i>Fyziologická skvrnitost.....</i>	<i>21</i>
2.7.5.4	<i>Lenticelová skvrnitost.....</i>	<i>21</i>
2.7.5.5	<i>Jonathanová skvrnitost.....</i>	<i>21</i>
2.7.5.6	<i>Sklovitost.....</i>	<i>21</i>
2.7.5.7	<i>Hnědnutí dužiny z chladu.....</i>	<i>22</i>
2.8	Metody stanovení aktivních látek v ovoci.....	22
2.8.1	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	22
2.8.1.1	<i>Separční systémy v kapalinové chromatografii.....</i>	<i>22</i>
2.8.1.2	<i>Kapalinová rozdělovací chromatografie.....</i>	<i>22</i>
3	Experimentální část.....	23
3.1	Použité chemikálie, přístroje a vzorky.....	23
3.2	Úprava vzorku.....	23

3.3	Stanovení celkové antioxidační aktivity	24
3.4	Stanovení nízkomolekulárních antioxidantů.....	25
3.4.1	Obsah vitamínu C.....	25
3.4.2	Celkové polyfenoly	25
3.4.3	Celkové flavonoidy	26
3.5	Stanovení individuálních flavonoidů pomocí HPLC.....	26
3.6	Povrchová mikroflóra	27
3.6.1	Envirocheck® Contact YM(R)	27
3.6.1.1	<i>CASO (Tryptic Soy) Agar</i>	27
3.6.1.2	<i>Rose Bengal Chloramphenicol Agar (R)</i>	27
3.6.2	Envirocheck® Contact TVC	27
3.6.2.1	<i>Nutrient Agar obsahuje TTC</i>	27
3.6.2.2	<i>Nutrient Agar</i>	27
3.7	Povrchová mikroskopie	28
4	Výsledky	29
4.1	Změny skupinových parametrů - jablka skladovaná při pokojové teplotě	29
4.1.1	Stanovení celkové antioxidační aktivity	29
4.1.2	Vitamin C	30
4.1.3	Celkové polyfenoly	31
4.1.3.1	<i>Srovnání odrůdy Golden Delicious a odrůdy Idared</i>	31
4.1.3.2	<i>Srovnání změn obsahu polyfenolů u obou odrůd</i>	32
4.1.4	Celkové flavonoidy	33
4.2	Změny skupinových parametrů - jablka skladovaná ve sklepě	34
4.2.1	Stanovení celkové antioxidační aktivity	34
4.2.2	Vitamin C	35
4.2.3	Celkové polyfenoly	36
4.2.3.1	<i>Srovnání odrůdy Golden Delicious a odrůdy Idared</i>	36
4.2.3.2	<i>Srovnání obou odrůd</i>	38
4.2.4	Celkové flavonoidy	38
4.3	Jablka skladovaná v lednici	39
4.3.1	Stanovení celkové antioxidační aktivity	39
4.3.2	Vitamin C	40
4.3.3	Celkové polyfenoly	41
4.3.3.1	<i>Srovnání odrůdy Golden Delicious a odrůdy Idared</i>	41
4.3.3.2	<i>Srovnání obou odrůd</i>	43
4.3.4	Celkové flavonoidy	43
4.4	Skupinové antioxidanty - srovnání různých prostředí skladování.....	44
4.4.1	Stanovení celkové antioxidační aktivity	44
4.4.2	Vitamin C	45
4.4.3	Celkové polyfenoly	47
4.4.4	Celkové flavonoidy	48
4.4.5	Stanovení individuálních flavonoidů metodou HPLC	49
4.4.5.1	<i>Stanovení katechinů a epikatechinů pomocí HPLC</i>	49
4.4.5.2	<i>Stanovení kyseliny chlorogenové pomocí HPLC</i>	51
4.4.5.3	<i>Stanovení katechingallátu a epikatechingallátu pomocí HPLC</i>	52
4.5	Hrušky.....	54

4.5.1	Stanovení celkové antioxidační aktivity	54
4.5.2	Vitamin C	55
4.5.3	Celkové polyfenoly	55
4.5.4	Stanovení pomocí HPLC.....	56
4.6	Povrchová mikroflóra	58
4.6.1	Envirocheck® Contact YM(R)	58
	4.6.1.1 CASO (<i>Tryptic Soy</i>) Agar.....	58
	4.6.1.2 <i>Rose Bengal Chloramphenicol Agar (R)</i>	59
4.6.2	Envirocheck® Contact TVC	59
	4.6.2.1 <i>Nutrient Agar obsahuje TTC</i>	59
	4.6.2.2 <i>Nutrient Agar</i>	59
5	Diskuze	60
6	ZávěrY	62
7	použité zdroje.....	64
8	PŘÍLOHY	66
8.1	Kalibrační křivka kyseliny gallové	66
8.2	Kalibrační křivka katechinu	66
8.3	Povrchová mikroskopie – Golden Delicious	67
8.4	Povrchová mikroskopie – Idared	67

1 ÚVOD

Buňky v lidském těle jsou neustále vystaveny působení toxických forem kyslíku, který je hlavním zdrojem volných radikálů v přírodě. Zhoubné účinky tohoto prvku ničí buňky. Kyslík je nedílnou součástí našeho energetického a metabolického systému, zároveň však pomalu narušuje genetický materiál a schopnost regenerace buňky.

Obranou proti volným radikálům jsou antioxidanty. Antioxidanty svou činností přispívají k ochraně imunitního systému. Vážou se na velmi reaktivní škodlivé radikály dříve, než stačí poškodit naše buňky. Přírodní antioxidanty se vyskytují mimo jiné i v potravě. Antioxidanty v potravinách prodlužují jejich trvanlivost. Jejich užívání má příznivé účinky na zdraví člověka.

Antioxidanty přijímané v potravě mají výrazně vyšší účinnost než stejná dávka antioxidantů podaná jako potravinový doplněk, poněvadž působí synergisticky jako komplexní skupina schopná vzájemné regenerace. Důležité antioxidanty, jako jsou karotenoidy, flavonoidy, třísloviny, polyfenoly, vitaminy A, E, C se vyskytují převážně v ovoci a v zelenině.

V jablkách se vyskytuje celá řada důležitých antioxidantů. Navíc jsou jablka významným tuzemským zdrojem a jsou k dispozici pro konzumaci prakticky celý rok. Obsah antioxidantů v jablkách se mění v průběhu uchovávání, přičemž více než 90% produkce jablek je skladováno. Jablka tedy musí být skladována tak, aby se v průběhu uchovávání příliš neměnil vzhled, organoleptický profil a pokud možno ani obsah antioxidantů, vitaminů a jiných důležitých látek.

V této práci byly porovnávány ve zrychleném modelovém experimentu vlivy tří různých prostředí, ve kterých byla jablka uchovávána. Jablka byla skladována po dobu 2 měsíců v laboratoři při pokojové teplotě, ve sklepě a v lednici. Bylo sledováno, jak se mění aktivní látky během uchovávání v závislosti na typu prostředí. Z výsledků bude formulován odhad, které prostředí je nejvhodnější pro dlouhodobé uchovávání jablek. Pro srovnání byly sledovány změny stejných parametrů i v plodech hrušek.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Volné radikály

Volné radikály jsou definovány jako molekuly s nepárovým elektronem ve valenčním orbitalu, schopným alespoň krátkodobé samostatné existence. Jsou všeobecně nestabilní a velmi reaktivní. Příklady volných radikálů: superoxidový, hydroxylový, peroxylový, alkoxylový a hydroperoxylový radikál. Mezi volné radikály patří také oxid dusnatý. Volné radikály kyslíku mohou být přeměněny na jiné nereaktivní druhy, jako je například peroxid vodíku. Volné radikály mohou hrát důležitou roli v původu života a biologické evoluce, implikující jejich prospěšné účinky na organismus [1].

Základní volné radikály kyslíku, tzv. reaktivní formy kyslíku (ROS, „reactive oxygen species“) jsou v podstatě meziprodukty redukce kyslíku na vodu. Redukcí kyslíku vzniká superoxidový radikál O_2^- . Jeho největším generátorem v těle je dýchací řetězec mitochondrií a aktivované fagocyty, které pomocí enzymu NADH oxidázy produkují superoxid cíleně jako jednu ze svých zbraní proti mikrobům [2].

Superoxid spontánně nebo působením antioxidačního enzymu superoxid-dismutázy přechází na peroxid vodíku. Ten je sám o sobě stabilní, ale vyznačuje se reaktivitou s redukovanými redoxně aktivními přechodovými kovy, typicky v těle s atomy železa nebo mědi. Tato tzv. Fentonova reakce poskytuje nesmírně reaktivní hydroxylový radikál OH^\cdot , který se považuje za vlastní agens startující oxidační poškození biomolekul organismu [2].

2.2 Obrana proti volným radikálům

Antioxidanty reagují s volnými radikály (antioxidanty primární) nebo inaktivují vzniklé hydroperoxydy (antioxidanty sekundární), váží do komplexů katalyticky působící kovy a eliminují přítomný kyslík [3].

Antioxidanty jsou látky, které prodlužují trvanlivost potravin tak, že je chrání před znehodnocením způsobeným oxidací, jejímž projevem je žluknutí tuků a dalších snadno se oxidujících složek potravin [3].

2.2.1 Primární antioxidanty

Mezi primární antioxidanty patří všechny povolené látky, jako kyselina askorbová a erythorbová a jejich deriváty, tokoferoly, fenolové antioxidanty, galláty [3].

2.2.2 Sekundární antioxidanty

K sekundárním antioxidantům se řadí např. cystein, peptidy obsahující cystein, lipová kyselina, metionin [3].

2.3 Nízkomolekulární antioxidanty

2.3.1 Vitamin C

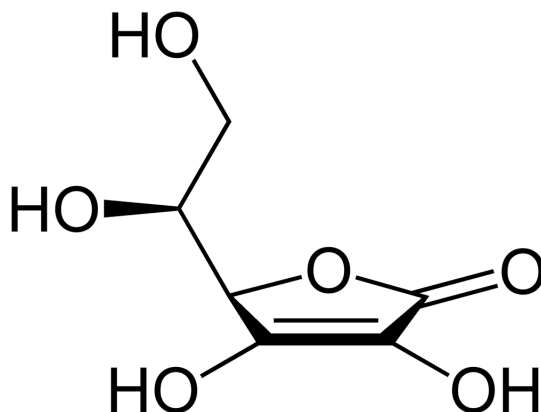
Základní biologicky aktivní sloučeninou je kyselina askorbová. Aktivitu vitaminu C vykazuje pouze kyselina L-askorbová. Názvem vitamin C se označuje nejen kyselina L-askorbová, ale také celý reversibilní redoxní systém. Ten obsahuje kyselinu L-askorbovou, L-askorbylradikál a kyselinu L-dehydroaskorbovou. Kyselina askorbová a askorbylradikál se v roztocích o fyziologickém pH vyskytují jako anionty [4].

Vitamin C se podílí na významných hydroxylačních reakcích probíhajících v organismu. Účastní se biosyntézy mukopolysacharidů, prostaglandinů, absorpce iontových forem železa,

jeho transportu, stimuluje transport sodných, chloridových iontů a zřejmě i vápenatých iontů, uplatňuje se v metabolismu cholesterolu, drog a v řadě dalších reakcí [4].

Důležitými antioxidačními reakcemi vitamínu C jsou reakce s aktivními formami kyslíku, resp. s volnými radikály, a reakce s oxidovanými formami vitamínu E a lipidů membrán chránící je před oxidací [4].

Denní dávka vitamínu C se pohybuje v rozmezí 60-200 mg. Veškerá potřeba vitamínu C u člověka je kryta vitaminem z potravy. Ovoce přispívá 30-35 % [4].



Obr. 1 Kyselina L-askorbová [5]

2.3.2 Tokoferoly

Tokoferoly jsou formy vitamínu E s nasyceným terpenoidním postranním řetězcem odvozeným od tokolu. Jednotlivé tokoferoly se liší polohou a počtem methylových skupin v chromanovém cyklu a biologickou aktivitou [4].

α -tokoferol je nejvýznamnějším lipofilním antioxidantem uplatňujícím se u eukaryotických buněk jako ochrana nenasycených lipidů před poškozením volnými radikály. Spolu s β -karotenem a koenzymy Q chrání strukturu a integritu biomembrán. Uplatňuje se také při ochraně lipoproteinů přítomných v plasmě [4].

2.3.3 Karotenoidy

Karotenoidy jsou žluté a oranžové, převážně lipofilní pigmenty rostlin, hub, řas, mikroorganismů a také živočichů. V rostlinách jsou karotenoidy primárně asociovány s chlorofyly jako přídavné složky anténních systémů fotosyntetického aparátu.

Většina karotenoidních látek se řadí mezi tetraterpeny. Za svoji barevnost vděčí řetězci konjugovaných dvojných vazeb. Karotenoidy se dělí na karoteny a xanthofyly. Xanthofyly jsou kyslíkaté sloučeniny odvozené od karotenů. Mezi nejznámější karotenoidy patří lutein, lykopen, β -karoten, α -karoten.

Skupina karotenoidů nazývaná retinoly jsou prekurzory vitamínu A. Karotenoidy reagují také s volnými radikály podobně jako β -karoten. Pro svoje antioxidační vlastnosti se karotenoidy uplatňují v prevenci degenerativních procesů a jako antikarcinogenní látky [3].

2.3.4 Polyfenoly

Polyfenoly nacházející se jako součást potravin rostlinného původu vykazují pestrou škálu biologických účinků. Patří k nim zejména antimikrobní a antioxidační vlastnosti. Patří mezi skupinu primárních antioxidantů. Polyfenoly také přispívají k organoleptickým vlastnostem

potravin a nápojů. Nejběžnějšími polyfenoly jsou flavonoidy, fenolové kyseliny a ligniny. Tyto látky chrání lipoproteiny s nízkou hustotou před oxidační modifikací, dále snižují riziko infarktu myokardu snižováním tvorby krevních sraženin [3, 6, 7].

Polyfenoly v jablkách působí jako antioxidanty. Hlavní třídy polyfenolů v jablečné dužině jsou prokyanidiny, hydroxyskořicové kyseliny, katechiny, anthokyaniny, flavonoly a dihydrochalkony. Flavonoly a anthokyaniny jsou nalézány téměř výhradně ve slupce [8].

Během zpracování jablek podléhají některé polyfenoly enzymatické oxidaci. Tato oxidace nastane po drčení a lisování, když je enzym polyfenoloxidas vystaven prostředí obsahujícímu kyslík [7].

2.3.5 Flavonoidy

Flavonoidy jsou rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů. Vyskytují se jako volné látky nebo jako glykosidy. Mezi flavonoidy patří katechiny, leukoanthokyanidiny, flavanony, flavanonoly, flavony, flavonoly a anthokyanidiny [3].

Většina flavonoidů se v potravinách účastní reakcí enzymového hnědnutí. Flavonoidy jsou schopny vázat těžké kovy a terminovat radikálové oxidační reakce. Důležitý pro antioxidační aktivitu flavonoidů je počet hydroxylových skupin v molekule a jejich poloha.

Mnoho studií ukázalo, že jablka jsou bohatým zdrojem fenolických sloučenin, převážně flavonoidů. Jejich aktivita a koncentrace se liší zralostí, přírodními podmínkami a částečně i druhem ovoce [9].

2.4 Odrůdy jablek

2.4.1 Golden Delicious

Golden Delicious je odrůda jablek pocházející z USA. Nejvíce je zastoupena v teplejších oblastech Moravy a v teplejších místech v Čechách [10, 11].

Plody jsou střední, vysoce kulovité, mírně žebnaté. Základní barva je světle zelená, v době zralosti přechází v žlutou, někdy s nevýrazným růžovým líčkem. Slupka je tenká, suchá, hladká, matně lesklá a otláčuje se. Dužina je nažloutlá, pevná a křehká konzistence, navinule sladká, šťavnatá, aromatická a velmi dobrá [10, 12, 13].

V teplejších oblastech se sklízí koncem září, ze středních poloh až v druhé polovině října. Konzumní zralost dosahuje v listopadu a vydrží do března až dubna. Během skladování vyžaduje vyšší relativní vzdušnou vlhkost [10, 14].

Mezi hlavní nedostatky patří velká citlivost na strupovitost a vysoké nároky na výběr stanoviště i plochy. Vyžaduje intenzivní chemickou ochranu [15].

2.4.2 Idared

Odrůda byla vyšlechtěna v USA křížením odrůd „Wagenerovo“ a „Jonathan“ [11].

Plody jsou středně velké, kulovité. Základní barva je zelenožlutá, v době zralosti překrytá jasně červenou barvou. Podle počasí se vybarvuje až do tmavě fialové barvy. Slupka je tlustá, tuhá, hladká, lesklá. Otláčuje se až po delším skladování. Dužina má bílou barvu, konzistence je křehká, navinule sladká chuť, šťavnatá, bez aromatu [16, 17, 18].

Sklízí se v první a druhé dekádě října. Konzumně dozrává v prosinci. Při dobrém skladování vydrží až do června. Velmi dobře se skladuje, netrpí skládkovými chorobami [17, 19, 20].

Mezi nedostatky patří silná náchylnost k chorobám, větší citlivost na mraz, v horších půdních a klimatických podmínkách při nedostatečném vyžrání plodů jen průměrná chuť [17].

2.5 Senzoricky významné těžké aromatické látky

Pro senzoricky významné látky je charakteristické, že ve srovnání s jinými doprovodnými látkami podobného druhu se nacházejí v plodech ve velmi nízké koncentraci [21].

2.5.1 Jablka

V odrůdě Golden Delicious byl zjištěn etyl-2-methylbutyrát, který je obsažen ve stopovém množství. Pro svůj zřetelný čichový vjem poskytuje zralým plodům výrazné aroma. V nezralých plodech je typický hexanal a 2-hexanal, které vylisované šťávě dávají trávovitou vůni [21].

2.5.2 Hrušky

Výrazné aroma, připomínající hrušky, tvoří methyl a ethylester kyseliny trans-2-cis-4-dekadienové. Dekadionáty mají v průběhu zrání vrchol produkce časově shodný s produkcí CO₂ a ethylenu. Ethylester této kyseliny rozpuštěný v hruškovém moštu je příčinou drsného pocitu v hrtanu [21].

2.6 Dozrávání ovoce

Technika řízeného zrání sleduje mikroklimatické podmínky skladového prostředí s fyziologickými nároky plodin, které jinak mají všechny předpoklady pro nezávislé a přirozené biologické dozrávání. Považuje se za prostředek přípravy produktů k okamžité spotřebě v několika málo dnech u plodů přímo po sklizni a nebo po chladírenském skladování [21].

Řízené zrání je založeno na kombinovaném účinku tepla a ovzduší přesyceného kyslíkem, nebo obohacené atmosféry kyslíkem se záměrným přírůdkem ethylenu, případně normálně kyslíkaté atmosféry s regulovanou hladinou ethylenu [21].

U klimakterického typu ovoce jako jsou jablka a hrušky záměrná iniciace procesů zrání jedním nebo všemi uvedenými faktory najednou, podněcuje všechny vnější a vnitřní znaky zrání. Mezi vnější znaky patří barva slupky, pevnost dužiny. Mezi vnitřní znaky patří spontánní zrychlení látkové výměny [21].

2.7 Skladování ovoce

Určení nejvhodnější doby sklizně je ztíženo odlišnými stanovišti pěstování. Předčasná a pozdní sklizeň negativně ovlivňuje uchovatelnost chladírensky skladovaných jablek. Pro dlouhodobé skladování mají být plody sklizeny ve fyziologicky optimálním termínu a stavu, v němž při dané teplotě skladování je nejnižší rychlost látkové výměny, ale přitom vyvážené z hlediska dalších enzymových reakcí [21].

2.7.1 Předčasná sklizeň

Předčasná sklizeň ovlivňuje hmotnost a velikost plodů. Poslední 3 týdny před sklizní může být přírůstek 15-20 % hmoty. Dále ovlivňuje vybarvení, chuť a vůni. Předčasnou sklizní jsou tyto procesy předčasně přerušeny. Může způsobovat také zvýšenou náchylnost k fyziologické skvrnitosti a vadnutí během chladírenského skladování [21].

2.7.2 Pozdní sklizeň

Pozdní sklizní se zvyšuje náchylnost ke hnědnutí dužiny, jonathanové skvrnitosti a spále. Zkracuje se uchovatelnost vlivem pokročilých procesů zrání [21].

2.7.3 Dýchání plodů

Ve fázi vybarvování plodů, sládnutí a měknutí dužiny, tvorby vonných látek se produkce CO₂ na přechodnou dobu zvýší. Je to první příznak stárnutí. Po dosažení maximální hodnoty intenzity dýchání, které splývá s konzumní zralostí, pak následuje pokles intenzity dýchání, který je u hrušek mnohem větší než u jablek. Tento zlom charakterizuje období, kdy jsou plody nejvhodnější ke konzumu, ale nehodí se ke skladování při nízkých teplotách nebo v atmosféře, která byla obohacena CO₂ [21].

Relativně náhlá změna dýchací aktivity signalizuje přechod od růstové fáze ve vývoji plodu k fázi stárnutí. U většiny plodin předchází vzestupu respirace vznik fyziologicky aktivních koncentrací olefinických plynů, jako je ethylen, v mezibuněčných prostorách plodu. Oxogenní aplikace ethylenu zahájí období klimakteria u nezralých plodů a indikuje autokatalytický proces syntézy vlastního ethylenu. Ethylen můžeme považovat za přirozený hormon zrání. Začátek biosyntézy ethylenu do stimulačních koncentrací se považuje za jev předcházející vzestupu respirace. Klimakterium vyznačuje přechod od růstových a vývojových stádií k začátku stárnutí [21].

Nejmenší ztráty prodýcháváním mají plody, které rovnoměrně rostly a byly dostatečně zásobeny asimiláty. Plody s větším počtem buněk a vyšším obsahem proteinů v buňce intenzivněji dýchají. Menší plody dýchají silněji než větší. Záleží na poměru difuzní plochy k hmotnosti, protože menší plody mají relativně větší povrch, kterým se umožňuje snazší výměna plynů. Menší plody jsou zpravidla méně zásobeny glycidy v poměru k proteinům [21].

2.7.3.1 Klimakterický typ

Klimakterium vyznačuje přechod od růstových a vývojových stádií k začátku stárnutí. Ovoce jako jsou jablka, hrušky, broskve, meruňky aj. se vyznačují obdobím klimakteria. U klimakterického typu je průběh dýchacího cyklu totožný s plody, které by se nechaly v atmosféře bez ethylenu. Pokud by se nacházely v předklimakterickém vývojovém období, produkovala by se tvorba vlastního ethylenu. Plody nestejně zralé, nebo odlišných druhů, z nichž jeden významně produkuje ethylen, se nemají společně skladovat [21].

Plody klimakterického typu dozrávající na stromě procházejí klimakterickou fází sice pomaleji, zato výsledné hodnoty intenzity dýchání plodů zralých i přežrávajících jsou mnohem vyšší i proto, že výsledná produkce bude závislá na teplotě prostředí [21].

2.7.3.2 Vliv teploty na intenzitu dýchání

Zvyšující se teplota může dýchání plodů podstatně urychlovat. Hrušky, dozrávající v teplotě 20 °C jsou v období klimakterického maxima šťavnaté, měkké a plně vybarvené. Ale pokud dozrávají při teplotě 0 °C, pak ve stejném vývojovém stádiu jsou nevybarvené, tvrdé. Teplota nerovnoměrně ovlivňuje jednotlivé dílčí reakce. Jsou-li při nízké teplotě dlouhodobě skladovány náchylné odrůdy hrušek, ztrácí po následném uložení ve vyšších teplotách schopnost dozrávat. Zralé hrušky snášejí teplotu 0 °C bez poruch. Hrušky nezralé vyžadují teplotu alespoň 3 °C a vyšší, aby v nich procesy dozrávání nebyly narušeny [21].

U jablek nízké teploty mohou způsobit fyziologické poruchy z chladu, které se primárně projevují intenzivnějším dýcháním. Dílčí teplotou jsou nestejně zpomaleny dílčí enzymatické reakce, které vedou k tvorbě škodlivin, následně působící jako buněčné jedy. Na fyziologické poruchy jsou citlivé zejména některé odrůdy jablek a hrušek [21].

2.7.4 Změny zásobních látek

V průběhu vegetace se sacharidy, vytvořené asimilací listů, ukládají v plodech jednak ve formě, jednoduchých cukrů, jednak polysacharidů. Za hlavní cukr, transformovaný z listů do plodů, se pokládá především sacharosa. U plodů jablek převažuje D-glucitol nad sacharosou.

Úloha cukrů spočívá v tom, že ve formě polysacharidů tvoří hlavní části buněčné stěny a výstužné složky buněk. Jako reverzní látky jsou výchozím substrátem při získávání energie při biologických oxidacích a syntézách proteinů, tuků, vosků, polyfenolů, barevných pigmentů, vitaminů, aromatických látek. Tvoří glykosidické složky proteinů, polyfenolů a heteroglykosidů [21].

2.7.4.1 Jednoduché cukry

Obsah cukrů, vztažený na čerstvou hmotu, se během vyspívání postupně zvyšuje. U jablek a hrušek na 12 %, což představuje asi 70-80 % rozpustné sušiny [21].

U jádrového ovoce, uloženého po sklizni od teploty 10 °C, stoupá obsah sacharosy v závislosti na hydrolýze škrobu. Čím je pozdější sklizeň, tím je také vyšší obsah sacharosy. Následná rychlost poklesu při skladování je zřetelnější, než odpovídající změny v intenzitě dýchání [21].

Fruktosa je hlavním cukrem zejména hrušek. Čím déle zůstávají plody na stromě, tím významněji se kumuluje fruktosa z listů do plodu. Naopak obsah glukosy je v ovoci podstatně nižší [21].

2.7.4.2 Složky buněčné stěny

Stěny buněk obsahují z více jak 90 % celulosu, hemicelulosu, pektinové látky a lignin. Tyto složky jsou jen výjimečně zastoupeny v čistých formách, většinou bývají doprovázeny proteiny a lipidy [21].

Obsah pektinu nepřesahuje 30 % podílu buněčné stěny, v přepočtu na čerstvou hmotu pak kolísá jako Ca-pektát u jablek mezi 0,5 – 1,1 %, u hrušek 0,3 – 0,9 % [21].

2.7.4.3 Změny obsahu organických kyselin

V jablkách, vedle kyseliny jablečné, která u kyselých odrůd představuje 80 – 90 % veškerých kyselin, u méně kyselých cca 50 %, je druhou významnou složkou kyselina chinová. Kyselina chinová představuje až 1/3 veškerých kyselin. Spolu s kyselinou kávovou tvoří kyselinou chlorogenovou. Tyto kyseliny, které jsou také přítomné v hruškách, včetně kyseliny šikimové, jsou biochemicky významné v terminálních oxidacích, navazující na přeměny vitamínu C pro svoji konfiguraci –OH skupin na aromatickém jádře [21].

Kyselina citronová převažuje více u bobulového ovoce, v jablkách je zastoupena asi z 10 %, u moštových odrůd hrušek však představuje až 21 % podílu [21].

2.7.5 Fyziologická onemocnění ovoce

Ztráty na hmotnosti se během uložení v chladárně v podstatě uplatňují lineární závislostí. Fyziologické choroby mohou zcela nekontrolovatelně znehodnotit valnou část skladovaných produktů [21].

2.7.5.1 Spála

Po 5-6 měsíčním skladování se na povrchu plodu objevují hnědé skvrny, střední část dužiny je nepoškozená. Napadená jablka neztrácejí svoji typickou chuť a vůni. Po delší době může hnědá zóna zasáhnout 3-5 mm vrstvu pod slupkou.

Spála se objevuje u všech zelených odrůd a odrůd s červenou krycí barvou. Je častější u těch plodů, které mají větší část povrchu zelenou. Čím je plod nezralejší, tím je náchylnější ke spále.

Během skladování je potřeba zajistit rychlé ochlazení na požadovanou teplotu, její malé kolísání a dostatečnou cirkulaci vzduchu. Vysoká relativní vlhkost výskyt spály podporuje [21].

2.7.5.2 Křenčení

Hnědavé skvrny jsou rozesety rovnoměrně v dužině v oblasti jádřince. Jablka mají fádňí chuť, velké korkovité plochy s průměrem 5-8 mm, tmavší barvu a zelený okraj korkovitých míst. Plody jsou deformované [21].

2.7.5.3 Fyziologická skvrnitost

Hnědavé skvrny jsou obvyklé v periferní zóně pod slupkou. Jablka mají hořkou chuť, skvrny jsou téměř kulaté o průměru 2-6 mm a objevují se už během července, během zrání plodu a někdy až při sklizni a skladování [21].

2.7.5.4 Lenticelová skvrnitost

Objevuje se během zrání nebo při skladování. Nejdříve se na plodech objeví fialové, později hnědé povrchové kulovité skvrny. Centrem bývá lenticela, která zůstává světle zbarvena [21].

2.7.5.5 Jonathanová skvrnitost

Hnědé až černé skvrny jsou formovány ve slupce nepravidelně, nejčastěji o průměru 1-3 mm, ostře ohraničené od okolních částí. Pod poškozenými místy je zcela zdravé pletivo.

Příliš pozdě sklizené plody jsou velmi citlivé na toto onemocnění. Šíření podporuje vysoká teplota v období mezi sklizní a začátkem skladování, nadměrné kolísání skladovací teploty a slabá vnitřní cirkulace vzduchu. Osvědčenou metodou pro zpomalení onemocnění je úchova v upravené atmosféře s 3-5 % koncentrací CO₂ [21].

2.7.5.6 Sklovitost

Je fyziologickou poruchou jablek i hrušek, zapříčiněnou vegetačními faktory. Dužina je sklovitě průhledná, teprve v pokročilejším stadiu se povrch plodů zbarvuje temně zeleně, připomínající olejové skvrny. Projevuje se hlavně na velkých, vybarvených plodech, které kromě vizuálně zjištěných vad chutnají fádňě, protože obsahuje méně kyselin.

Sklovitost je vyvolána náhlým vzestupem koncentrace jednoduchých cukrů, hydrolyzovaných ze škrobu, za současného příjmu vody, zvyšuje se osmotický tlak a tekutina zaplavuje i mezibuněčné prostory.

Fyziologická porucha se projevuje, pokud po chladném počasí následuje období vysokých teplot a intenzivního slunečního záření. Silně sklovité plody nejsou pro dlouhodobé skladování vhodné [21].

2.7.5.7 Hnědnutí dužiny z chladu

Nastává účinkem poklesu optimální teploty do kritického rozmezí, v němž se projevuje disproporce metabolické rovnováhy. Dílčí reakce pak probíhají nestejnou rychlostí, zejména kyseliny jablečné. Následně se tvoří acetaldehyd, ethanol a další složky, charakterizující poruchy oxidoredukčních pochodů, které působí jako buněčné jedy [21].

2.8 Metody stanovení aktivních látek v ovoci

2.8.1 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)

HPLC je separační metoda používající kolony s vhodnou stacionární fází, jejíž vlastnosti umožňují analogicky jako u plynové chromatografie dosáhnout rychlé separace složitých směsí látek s vysokým rozlišením zón. Kontinuální separace látek se provádí na kolonách se stacionární fází o velmi malých částicích (3-10 μm) s úzkou distribucí velikosti, homogenním filmem zakotvené stacionární fáze [22].

2.8.1.1 Separační systémy v kapalinové chromatografii

V kapalinové chromatografii se využívají čtyři systémy podle převažujícího mechanismu separace:

- kapalinová adsorpční chromatografie (LSC)
- kapalinová rozdělovací chromatografie (LLC)
- gelová permeační chromatografie (GPC)
- iontově výměnná chromatografie (IEC)

2.8.1.2 Kapalinová rozdělovací chromatografie

Kapalná rozdělovací chromatografie se uskutečňuje v systémech s kapalnou stacionární fází fyzikálně vázanou na inertním chromatografickém nosiči (LLC) a v systémech se stacionární fází chemicky vázanou na reaktivním nosiči [22].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie, přístroje a vzorky

Chemikálie, standardy a kity

Dusitan sodný (Lachema, ČR)
Folin-Ciocalteuovo činidlo - RNDr. Jan Kulich, Hradec Králové (ČR)
Hydroxid sodný (Onex, ČR)
Chlorid hlinitý - Lachema (ČR)
Kyselina metafosforečná - Lachema (ČR)
„Total antioxidant status kit“, Randox Laboratories (USA)
Uhličitan sodný (Lachema, ČR)
2,6-dichlorindofenol - Sigma-Aldrich (Německo)
Kyselina L-askorbová - Sigma-Aldrich (Německo)
Kyselina gallová - Sigma-Aldrich (Německo)
(-)-Katechin - Sigma-Aldrich (Německo)
Methanol - LachNer (ČR)

Přístroje

Analytické váhy (AND HR-120)
Centrifuga - U-32-R, Boeco (Německo)
Spektrofotometr - Helios δ, Unicam (VB)
Ultrazvuk - PS02000 ultrasonic compact cleaner 1,25L, PowerSonic (SR)
Sestava HPLC, Ecom spol. s.r.o. (ČR)

- Termostat - LCO 102 LONG
- Pumpa, programátor gradientu - Beta 10
- Detektor - LCD 2084
- Degaser - DG 3014

Materiál

V práci byly studovány dvě odrůdy jablek a jedna odrůda hrušek. Jablka obou odrůd byla skladována při třech různých podmínkách prostředí: v laboratoři při 20,4 °C a vlhkosti 38,0 %, ve sklepě při 9 °C a vlhkosti 38,4 % a v lednici při 8 °C a vlhkosti 33,4 %. Bylo pracováno s odrůdami Golden Delicious a Idared získanými v obchodní síti.

Hrušky byly analyzovány pouze krátkodobě a byly uchovávány v lednici a ve sklepě.

3.2 Úprava vzorku

Před stanovením aktivních složek bylo nutné vzorek jablka upravit do takové podoby, jakou vyžadovalo požadované stanovení a aby zkoumané látky v jablku byly stabilní. Bylo nutné zabránit oxidaci plodů. Po vyzkoušení různých rozpouštědel byla čerstvá jablečná šťáva smíchána s metanolem a vodou v poměru 1:1.

Celé jablko bylo nejprve zváženo. Část jablka byla použita na stanovení celkových polyfenolů, celkových flavonoidů a celkové antioxidační aktivity. Ve druhé části jablka byly stanovovány katechiny metodou HPLC a vitamín C mikrotitrační metodou.

Celkové polyfenoly, celkové flavonoidy a celková antioxidační aktivita byla stanovována v čerstvé šťávě. Z jablek byla získána šťáva pomocí odšťavňovače. 10 ml jablečné šťávy bylo

ihned pipetováno do 25 ml odměrné baňky. Baňka byla doplněna po rysku směsí methanolu s vodou v poměru 1:1.

Pro stanovení vitamínu C byl použit malý podíl jablka, který byl po zvážení nakrájen na kousky a v třecí misce rozetřen s 10 ml 2% kyseliny metafosforečné. Poté byl vzorek přefiltrován.

Pro stanovení katechinů byly 3 ml čerstvé jablečné šťávy smíchány se 3 ml směsí methanolu s vodou v poměru 1:1. Pak byl roztok zcentrifugován.

Hrušky byly upravovány stejným způsobem jako jablka.

3.3 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Celková antioxidační aktivita byla stanovena pomocí kitu TAS Randox. V kitu byl obsažen pufr a substrát v roztoku a chromogen a standard v prášku. Hodnota ABTS byla stanovována každý týden při odebrání jablek.

Princip

ABTS je inkubováno peroxidasou a peroxidem vodíku, aby produkoval radikálový kation $ABTS^+$. Má relativní stabilní modrozelenou barvu, která je měřena při 600 nm. Antioxidanty v přidávaném vzorku způsobují potlačení produkce barvy až do úrovně, která je úměrná jejich koncentraci.

Postup

Práškové chemikálie byly převedeny do roztoku. Do zúžené kyvety byly pipetovány roztoky podle tabulky.

	blank	standard	vzorek
deionizovaná voda	10 μ l	8 μ l	8 μ l
standard	-	2 μ l	-
vzorek	-	-	2 μ l
chromogen	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Do kyvety byl napipetován blank. Byla změřena absorbance blanku A_1 proti vzduchu při 600 nm. Poté bylo do kyvety přidáno 100 μ l substrátu a po třech minutách byla změřena absorbance A_2 . Stejně bylo postupováno při měření standardu a vzorku jablek a hrušek.

Výpočet

Hodnota antioxidační aktivity byla vypočítána podle následujících vzorců:

$$faktor = \frac{c_{standardu}}{(\Delta A_{blank} - \Delta A_{standardního\ vzorku})}$$

$$ABTS = faktor \cdot (\Delta A_{blank} - \Delta A_{vzorku\ jablek})$$

ΔA bylo vypočítáno jako $A_2 - A_1$ daného vzorku. Vzorky byly 5 krát naředěny. Z tohoto důvodu bylo nutné provést korekci výpočtu na ředění. Výsledná hodnota antioxidační aktivity byla v $mmol \cdot l^{-1}$. Tato hodnota byla přepočítána pomocí experimentálně zjištěné hustoty jablečné šťávy. Výsledek byl poté uváděn v mmol na 1 kg suchého podílu.

3.4 Stanovení nízkomolekulárních antioxidantů

Z této skupiny látek byl sledován obsah vitamínu C, celkové polyfenoly a celkové flavonoidy. Jablka i hrušky byly odebírány v pravidelných týdenních intervalech. Obsah těchto látek byl sledován v jablečné šťávě. U plodů hrušek byl sledován pouze obsah vitamínu C a celkové polyfenoly.

3.4.1 Obsah vitamínu C

Princip

Kyselina askorbová se titruje v prostředí kyseliny metafosforečné odměrným roztokem 2,6-dichlorindofenolu. Prvním přebytkem odměrného roztoku se vzorek zbarví do růžova [23].

Postup

25 ml standardu kyseliny askorbové bylo odváženo do 25 ml odměrné baňky. Odměrná baňka byla doplněna 2% kyselinou metafosforečnou. Z tohoto roztoku byl pipetován 1 ml do titrační baňky, bylo přidáno 10 ml 2% kyseliny metafosforečné a bylo titrováno odměrným roztokem 2,6-dichlorindofenolu do slabě růžového zbarvení.

Poté byl stanoven obsah vitamínu C ve vzorku. Upravený vzorek (viz kapitola 3.2) byl titrován odměrným roztokem 2,6-dichlorindofenolu do slabě růžového zbarvení.

Výpočet

Obsah vitamínu C ve vzorku byl vypočítán přímou úměrou.

$$c_{\text{vz.}} = \frac{V_{\text{titr.vz.}} \cdot c_{\text{st.}}}{V_{\text{titr.st.}}}$$

Výsledek byl přepočítán na mg v 1 kg suchého podílu.

3.4.2 Celkové polyfenoly

Princip

Vzorek reaguje s Folin–Ciocalteuovým činidlem. Změna zbarvení je sledována spektrofotometricky. Jako standard slouží kyselina gallová o koncentraci $6 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ [24].

Postup

Do zkumavky byl napipetován 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla. Byl přidán 1 ml vody a 50 μl vzorku. Obsah zkumavky byl promíchán a ponechán 5 minut v klidu. Poté byl přidán 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného. Obsah zkumavky byl promíchán a ponechán 15 minut stát. U takto připraveného vzorku byla změřena absorbance proti slepému vzorku při 750 nm.

Slepý vzorek byl připraven stejně, pouze místo vzorku bylo do zkumavek pipetováno 50 μl vody.

Pro kalibraci byl nejprve připraven základní roztok kyseliny gallové o koncentraci $6 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Z něho bylo do šesti zkumavek pipetováno 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1,0 ml. Zkumavky byly doplněny vodou do celkového objemu 1,0 ml. Dále bylo postupováno stejně jako při stanovení celkových polyfenolů. Z výsledků byla získána závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové. Tato závislost je uvedena v grafu v kapitole 8.1 (příloha 1).

Výpočet

Obsah polyfenolů ve vzorku byl počítán z rovnice kalibrační křivky kyseliny gallové
$$A = 1,5993 \cdot c.$$

Koncentrace celkových polyfenolů byla přepočítána na obsah polyfenolů v mg na 1 kg suchého podílu.

3.4.3 Celkové flavonoidy

Princip

Změnu zbarvení roztoků vyvolává přítomnost flavonoidů. Změna zbarvení je sledována spektrofotometricky. Jako standard slouží katechin o koncentraci $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ [24].

Postup

Do zkumavky bylo pipetováno 0,5 ml vzorku, 1,5 ml vody a 0,2 ml 5% roztoku NaNO_2 . Obsah zkumavky byl promíchán a ponechán 5 minut v klidu. Do zkumavky bylo přidáno 0,2 ml 10% roztoku AlCl_3 , promícháno a ponecháno 5 minut stát. Poté bylo přidáno 1,5 ml roztoku NaOH o koncentraci $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a 1 ml vody. Obsah zkumavky byl promíchán. Po 15 minutách byla změřena absorbance proti slepému vzorku při 510 nm.

Slepý vzorek byl připraven stejným způsobem, pouze místo vzorku bylo do zkumavky pipetováno 0,5 ml vody.

Pro kalibraci byl nejprve připraven základní roztok katechinu o koncentraci $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Z něho bylo do šesti zkumavek pipetováno 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1,0 ml. Zkumavky byly doplněny vodou do celkového objemu 1,0 ml. Dále bylo postupováno stejně jako při stanovení celkových flavonoidů. Z výsledků byla získána závislost absorbance na koncentraci katechinu. Tato závislost je uvedena v grafu v kapitole 8.2 (příloha 2).

Výpočet

Obsah flavonoidů ve vzorku byl počítán z rovnice kalibrační křivky katechinu
$$A = 3,4752 \cdot c.$$

Koncentrace celkových flavonoidů byla přepočítána na obsah flavonoidů v mg na 1 kg suchého podílu.

3.5 Stanovení individuálních flavonoidů pomocí HPLC

Princip

Při HPLC se analyzovaný vzorek vnese na začátek kolony do proudu mobilní fáze, která ho kolonou unáší za současného zachycení jednotlivých složek vzorku sorbentem. Kolonu pak opouští tyto složky jednotlivě, a to podle toho, jak silně jsou sorbentem zadržovány – nejméně zadržované složky opouštějí kolonu jako první, nejvíce zadržované složky jako poslední.

Rozdělené složky dále putují do detektoru a záznamového zařízení, které jim přiřadí kvalitativní a kvantitativní hodnoty.

Mírou zadržení (retence) složky a zároveň její kvalitativní charakteristikou je její retenční čas t_R , podle kterého ji lze srovnáním s retenčními časy standardů identifikovat. Kvantita složky se pak určí kalibrační metodou [25].

Postup

Nejprve byla kolona promývána mobilní fází MeOH:H₂O v poměru 45:55. Vzorek ovocné šťávy byl nastříknut na začátek kolony. Složky vzorku byly detekovány při 280 nm.

Výpočet

Z výsledného chromatogramu byly zjištěny plochy a retenční časy píků a ty byly porovnány s kalibračními sadami určitých antioxidantů.

Obsah katechinů ve vzorku byl počítán z rovnice kalibrační křivky katechinu:

$$A = 44,588 \cdot c \quad [26].$$

Pro kyselinu chlorogenovou byla použita rovnice kalibrační křivky:

$$A = 117,47 \cdot c \quad [26].$$

Pro galláty byla použita tato rovnice kalibrační křivky:

$$A = 251,24 \cdot c \quad [26].$$

Výsledky obsahu látek stanovovaných pomocí HPLC byly uváděny v mg na 1 kg suchého podílu.

3.6 Povrchová mikroflóra

Postup

K určení počtu bakterií a plísní na povrchu jablek a hrušek byly použity komerční jednorázové testy Envirocheck® Contact YM(R) a Envirocheck® Contact TVC. Proužek s živným médiem byl přiložen na jablko a poté byl kultivován při uvedených teplotách. Po uplynutí doby kultivace byly spočítány bakterie a plísně na každé straně obou použitých testovacích proužků.

3.6.1 Envirocheck® Contact YM(R)

3.6.1.1 CASO (Tryptic Soy) Agar

Růst bakterií byl vyznačován červenými koloniemi na agaru. Agar byl inkubován dva dny při teplotě 30 °C. Poté byly přibližně spočítány červené kolonie.

3.6.1.2 Rose Bengal Chloramphenicol Agar (R)

Tento agar slouží k vyhodnocení plísní na povrchu ovoce. Agar byl inkubován sedm dní při teplotě 30 °C. Poté byly vyhodnoceny plísně, které na tomto agaru narostly.

3.6.2 Envirocheck® Contact TVC

3.6.2.1 Nutrient Agar obsahuje TTC

Růst bakterií udávají červené kolonie, které narostou na agaru kultivovaném dva dny při teplotě 36 °C. Poté byly kolonie bakterií spočítány.

3.6.2.2 Nutrient Agar

Na tomto agaru byly vyhodnocovány plísně. Kultivace probíhala dva dny při 36 °C. Po ukončení kultivace byly kolonie plísní spočítány.

3.7 Povrchová mikroskopie

U obou odrůd jablek byla provedena povrchová mikroskopie slupky. Snímky byly pořízeny ve spolupráci s ÚSFCH FCH VUT v Brně za použití světelného mikroskopu s vrchním osvětlením a zaznamenány připojeným fotoaparátém.

Výsledné fotografie jsou uvedeny v příloze – kapitoly 8.3 a 8.4.

4 VÝSLEDKY

4.1 Změny skupinových parametrů - jablka skladovaná při pokojové teplotě

Po zakoupení jablek byly proměřeny koncentrace nízkomolekulárních antioxidantů a celkové antioxidační aktivity. Poté byla jablka uložena v různém prostředí ještě dalších 8 týdnů. Odběry byly prováděny každý týden. Pátý týden skladování (6. týden od zakoupení) byla jablka proměřena naposledy po týdenních intervalech. Poslední odběr (7. odběr) byl proveden osmý týden po uskladnění jablek. V grafech jsou zaznamenávána pouze pořadí odběrů. Bylo provedeno srovnání změn aktivních látek v jablkách.

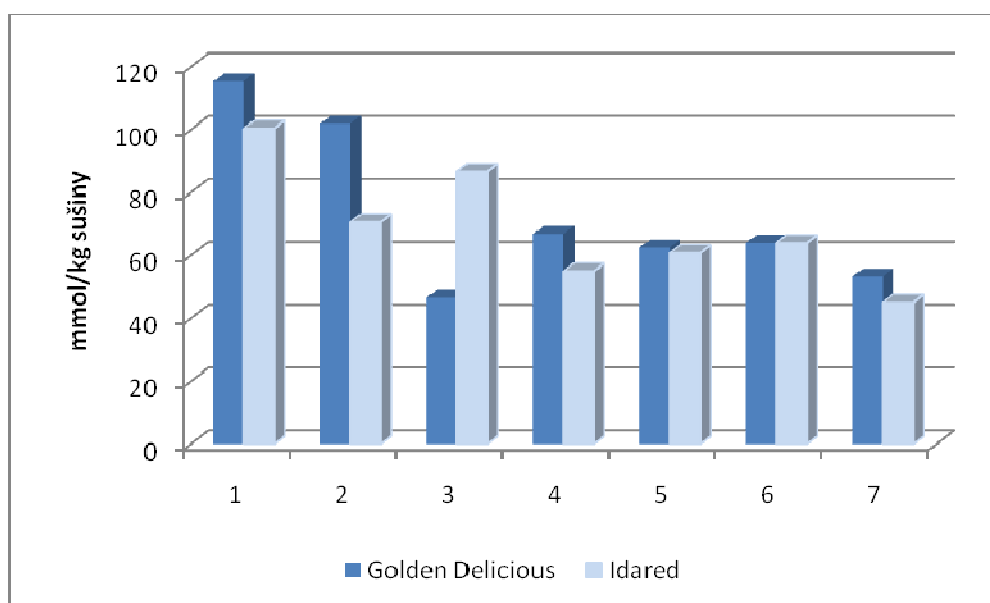
4.1.1 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Celková antioxidační aktivita byla stanovena pomocí kitu TAS Randox podle postupu uvedeného v kapitole 3.3.

Tabulka 1 Celková antioxidační aktivita v jablkách při pokojové teplotě

odběr	Golden Delicious c [mmol/kg sušiny]	Idared c [mmol/kg sušiny]
1.	115,38	100,37
2.	101,89	70,52
3.	46,51	86,69
4.	66,86	54,97
5.	62,52	60,78
6.	64,04	63,98
7.	53,42	44,99

Graf 1 Srovnání obsahu celkové antioxidační aktivity v jablkách skladovaných při 20 °C



Z grafu je patrné, že na počátku experimentu měly obě odrůdy nejvyšší antioxidační aktivitu. V průběhu uchovávání antioxidační aktivita klesala. V druhé polovině skladování

antioxidační aktivita začala nepatrně růst a ke konci opět klesla. Antioxidační aktivita u obou analyzovaných odrůd nebyla na konci uchovávání při pokojové teplotě příliš odlišná a klesla za 7 měsíců na přibližně polovinu původní hodnoty.

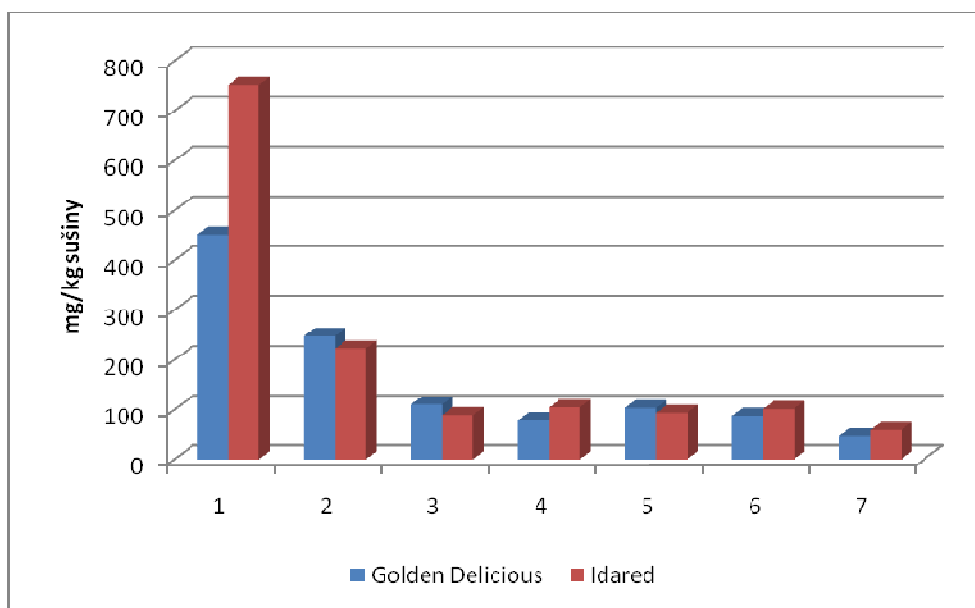
4.1.2 Vitamin C

Obsah vitamínu C v jablkách byl stanoven titračně podle postupu v kapitole 3.4.1. Výsledky byly přepočteny na mg v jednom kg suchého podílu. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 2 Obsah vitamínu C v jablkách skladovaných při pokojové teplotě

odběr	Golden Delicious	Idared
	c [mg/kg]	c [mg/kg]
1.	451,07	752,42
2.	248,08	222,93
3.	110,65	89,26
4.	79,114	104,50
5.	103,72	93,90
6.	87,91	101,71
7.	47,36	58,91

Graf 2 Srovnání obsahu vitamínu C v jablkách skladovaných při 20 °C



Z grafu je patrné, že se v průběhu skladování při pokojové teplotě významně snižuje obsah vitamínu C. Největší úbytek vitamínu C byl zaznamenán po prvním týdnu skladování, kdy u odrůdy Idared poklesl obsah vitamínu C o více než polovinu původního množství. V dalších týdnech skladování obsah vitamínu C nadále klesá, pokles však už není tak značný jako na počátku testu.

4.1.3 Celkové polyfenoly

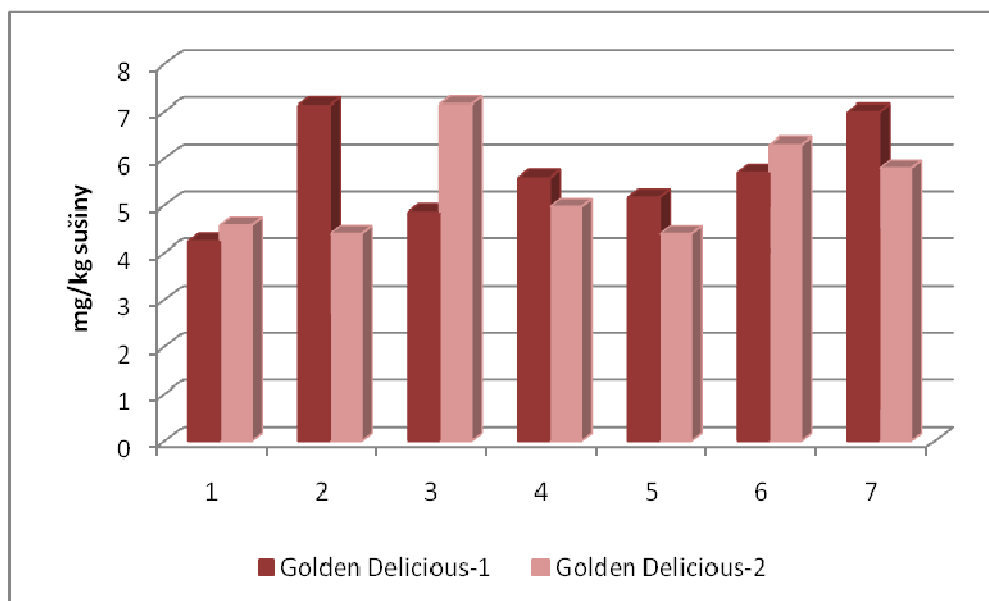
U obou odrůd byly vždy zpracovávány dvě jablka. Stanovení bylo prováděno podle postupu v kapitole 3.4.2. Nejprve byly srovnány dvě jablka stejné odrůdy, poté z nich byl vypočítán průměr a byly srovnány obě odrůdy jablek.

4.1.3.1 Srovnání odrůdy Golden Delicious a odrůdy Idared

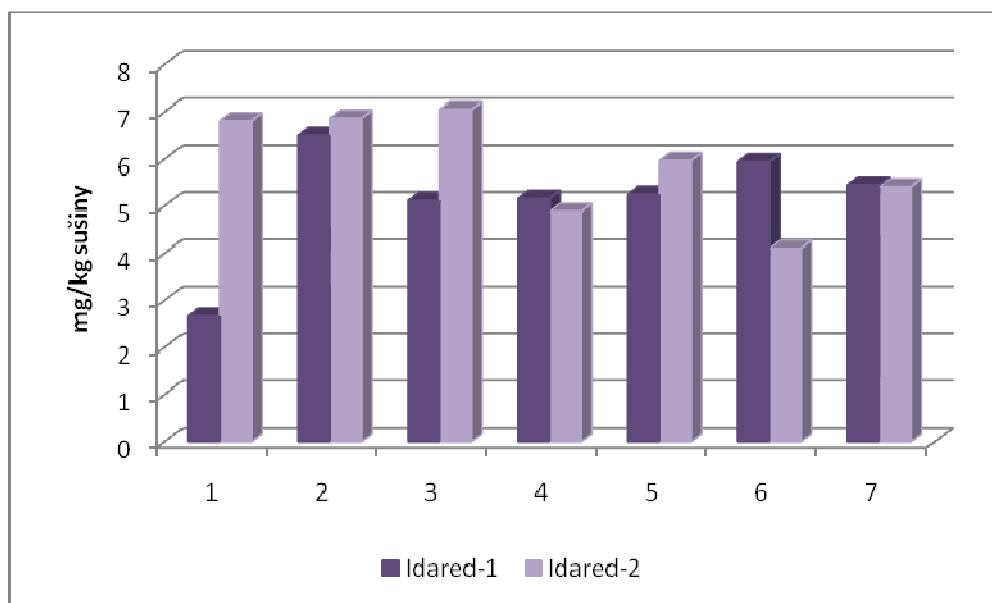
Tabulka 3 Obsah polyfenolů v odrůdě Golden Delicious a Idared

odběr	Golden Delicious-1		Golden Delicious-2		Idared-1		Idared-2	
	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD
1.	4,234	0,057	4,584	0,064	2,659	0,020	6,809	0,265
2.	7,125	0,082	4,395	0,117	6,495	0,121	6,863	0,096
3.	4,857	0,606	7,145	0,054	5,114	0,128	7,048	0,301
4.	5,586	0,063	4,963	0,130	5,161	0,043	4,885	0,370
5.	5,171	0,101	4,393	0,097	5,252	0,045	5,969	0,113
6.	5,690	0,166	6,288	0,040	5,943	0,293	4,103	0,043
7.	6,985	0,135	5,781	0,095	5,458	0,191	5,411	0,353

Graf 3 Srovnání obsahu celkových polyfenolů u odrůdy Golden Delicious



Graf 4 Srovnání obsahu celkových polyfenolů u odrůdy Idared



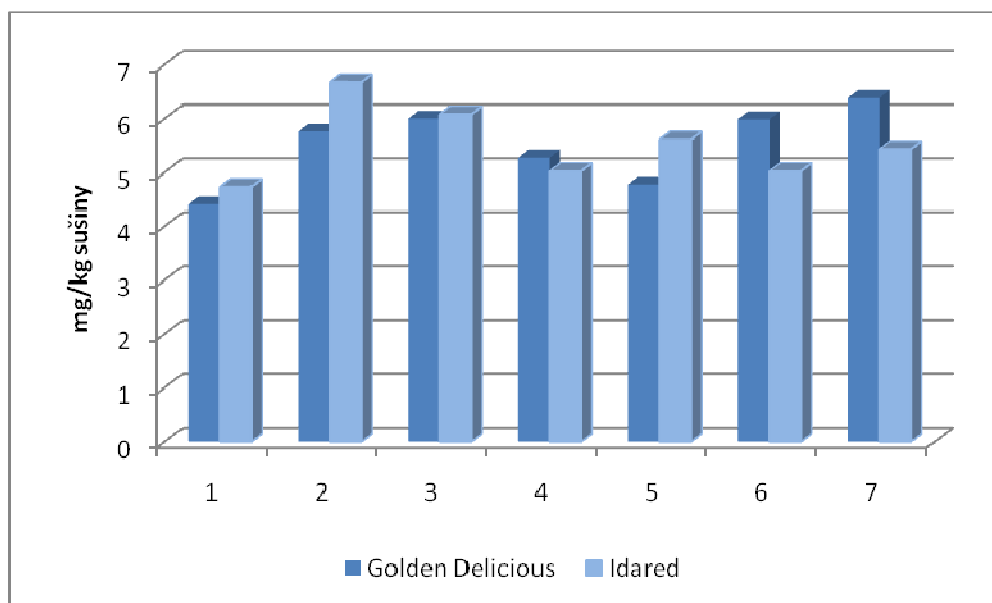
U obou grafů můžeme vidět, že i jablka stejné odrůdy obrané ve stejný časový okamžik se mohou výrazněji lišit obsahem celkových polyfenolů. Z tohoto zjištění můžeme usoudit, že každý plod podléhá individuálním změnám. Celkově však lze konstatovat, že obsah celkových polyfenolů je v obou odrůdách poměrně podobný a i změny vykazují podobný průběh. V průběhu skladování se obsah celkových polyfenolů výrazně nemění, ke konci zaznamenáváme mírný nárůst, zejména u odrůdy Golden Delicious.

4.1.3.2 Srovnání změn obsahu polyfenolů u obou odrůd

Tabulka 4 Obsah celkových polyfenolů v jablkách uchovávaných při pokojové teplotě

odběr	Golden Delicious	Idared
	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	4,409	4,734
2.	5,760	6,679
3.	6,001	6,081
4.	5,275	5,023
5.	4,782	5,610
6.	5,989	5,023
7.	6,383	5,435

Graf 5 Srovnání obsahu celkových polyfenolů v jablkách uchovávaných při 20°C



V grafu jsou uvedeny průměrné hodnoty jablek z každé odrůdy. Obsah celkových polyfenolů v průběhu skladování kolísá. Hodnoty celkových polyfenolů se v jednotlivých odrůdách výrazně neodlišují. Po prvním týdnu skladování obsah celkových polyfenolů u obou odrůd vzrostl, poté byl zaznamenán pokles a ke konci skladování mírný nárůst. Obsah celkových polyfenolů byl v první polovině skladování mírně vyšší u odrůdy Idared, ke konci byly hodnoty celkových polyfenolů vyšší u odrůdy Golden Delicious.

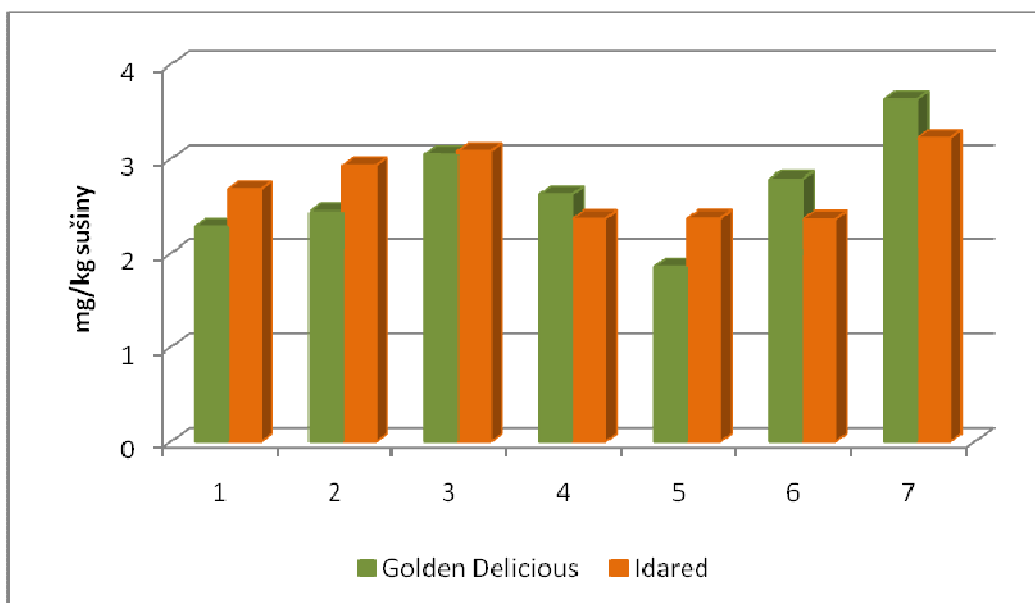
4.1.4 Celkové flavonoidy

U obou odrůd byly vždy zpracovávány dvě jablka, z nichž byla vypočítána průměrná hodnota obsahu celkových flavonoidů. Stanovení bylo prováděno podle návodu v kapitole 3.4.3.

Tabulka 5 Celkové flavonoidy v jablkách uchovávaných při pokojové teplotě

odběr	Golden Delicious c [mg/kg sušiny]	Idared c [mg/kg sušiny]
1.	2,284	2,683
2.	2,441	2,931
3.	3,052	3,087
4.	2,625	2,370
5.	1,859	2,372
6.	2,786	2,362
7.	3,631	3,218

Graf 6 Srovnání celkových flavonoidů v jablkách skladovaných při pokojové teplotě



Obsah celkových flavonoidů se v obou odrůdách příliš neliší. Nejprve v průběhu skladování obsah flavonoidů nepatrně vzrůstá, potom zaznamenáváme pokles a ke konci uchovávání obsah flavonoidů vzrůstá. Na začátku byl obsah celkových flavonoidů vyšší u jablek odrůdy Idared, ke konci byla hodnota celkových flavonoidů vyšší u odrůdy Golden Delicious. Vzrůst hodnoty celkových flavonoidů je podstatně vyšší než u celkových polyfenolů. Podíl flavonoidů na hodnotě celkových polyfenolů představuje přibližně polovinu (srov. graf 5, 6).

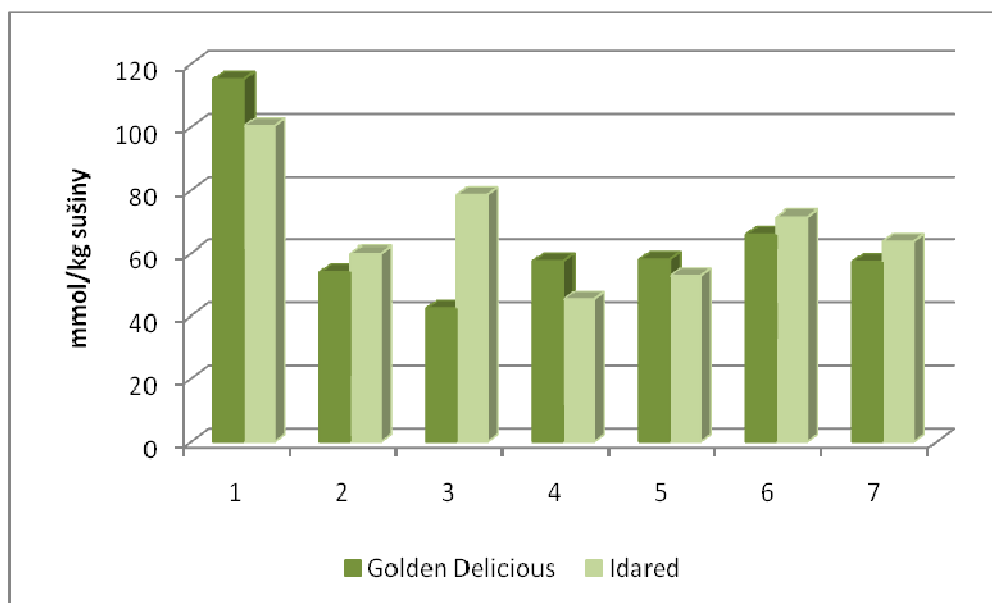
4.2 Změny skupinových parametrů - jablka skladovaná ve sklepě

4.2.1 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Tabulka 6 Celková antioxidační aktivita v jablkách uchovávaných ve sklepě

odběr	Golden Delicious	Idared
	c [mmol/kg sušiny]	c [mmol/kg sušiny]
1.	115,38	100,37
2.	53,96	59,85
3.	42,40	78,53
4.	57,53	45,34
5.	58,07	52,63
6.	65,89	71,41
7.	57,32	63,55

Graf 7 Srovnání obsahu celkové antioxidační aktivity v jablkách skladovaných ve sklepě



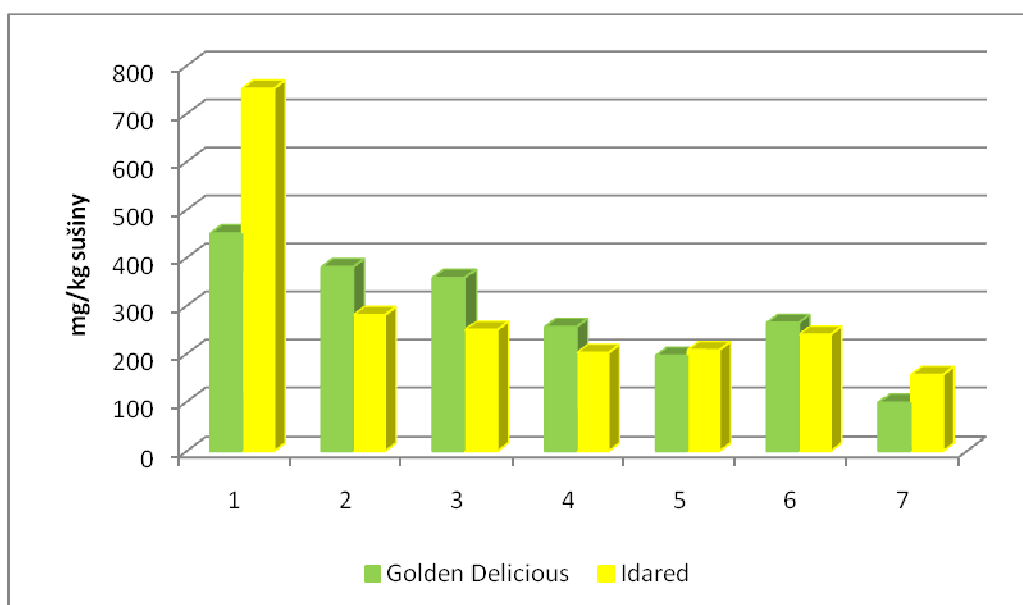
Celková antioxidační aktivita po prvním týdnu skladování prudce klesla. Hodnoty se snížily asi o polovinu. V průběhu skladování pak celková antioxidační aktivita velmi mírně vzrůstala. Hodnoty celkové antioxidační aktivity obou odrůd se od sebe výrazně nelišily.

4.2.2 Vitamin C

Tabulka 7 Výsledky výpočtů obsahu vitamínu C v jablkách skladovaných ve sklepě

odběr	Golden Delicious	Idared
	c [mg/kg]	c [mg/kg]
1.	451,07	752,42
2.	380,86	281,09
3.	358,26	249,99
4.	256,15	202,09
5.	196,18	207,90
6.	264,77	240,06
7.	98,41	156,16

Graf 8 Srovnání obsahu vitamínu C v jablkách skladovaných ve sklepě



Z grafu je vidět, že obsah vitamínu C v odrůdě Golden Delicious klesá pouze pozvolna. U jablek odrůdy Idared je pokles patrnější především po prvním týdnu skladování, kdy obsah klesl víc jak o polovinu. V dalších týdnech už obsah vitamínu C v odrůdě Idared klesal pouze nepatrně. Celkově lze konstatovat, že pokles obsahu vitamínu C v jablkách uskladněných ve sklepě je podstatně nižší než u jablek skladovaných při laboratorní teplotě

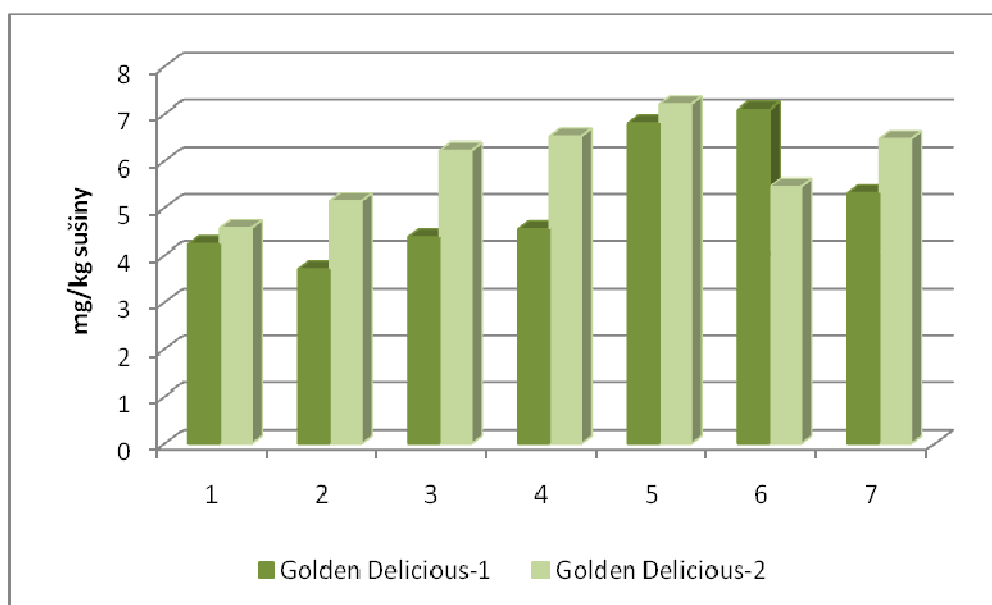
4.2.3 Celkové polyfenoly

4.2.3.1 Srovnání odrůdy Golden Delicious a odrůdy Idared

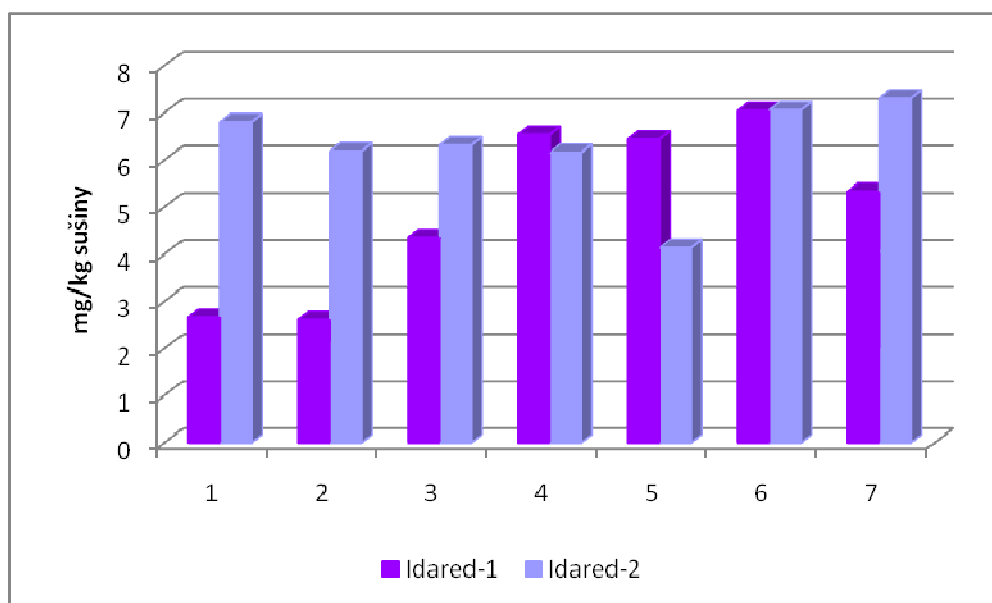
Tabulka 8 Obsah celkových polyfenolů v odrůdě Golden Delicious a Idared

odběr	Golden Delicious-1		Golden Delicious-2		Idared-1		Idared-2	
	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD
1.	4,234	0,057	4,584	0,064	2,659	0,020	6,809	0,265
2.	3,704	0,105	5,148	0,193	2,605	0,069	6,188	0,080
3.	4,382	0,403	6,227	0,293	4,351	0,176	6,314	0,056
4.	4,558	0,219	6,519	0,254	6,541	0,292	6,163	0,142
5.	6,806	0,188	7,199	0,233	6,445	0,106	4,135	0,083
6.	7,092	0,047	5,460	0,076	7,044	0,074	7,057	0,064
7.	5,324	0,081	6,460	0,228	5,332	0,224	7,312	0,184

Graf 9 Srovnání obsahu celkových polyfenolů u odrůdy Golden Delicious



Graf 10 Srovnání obsahu celkových polyfenolů u odrůdy Idared



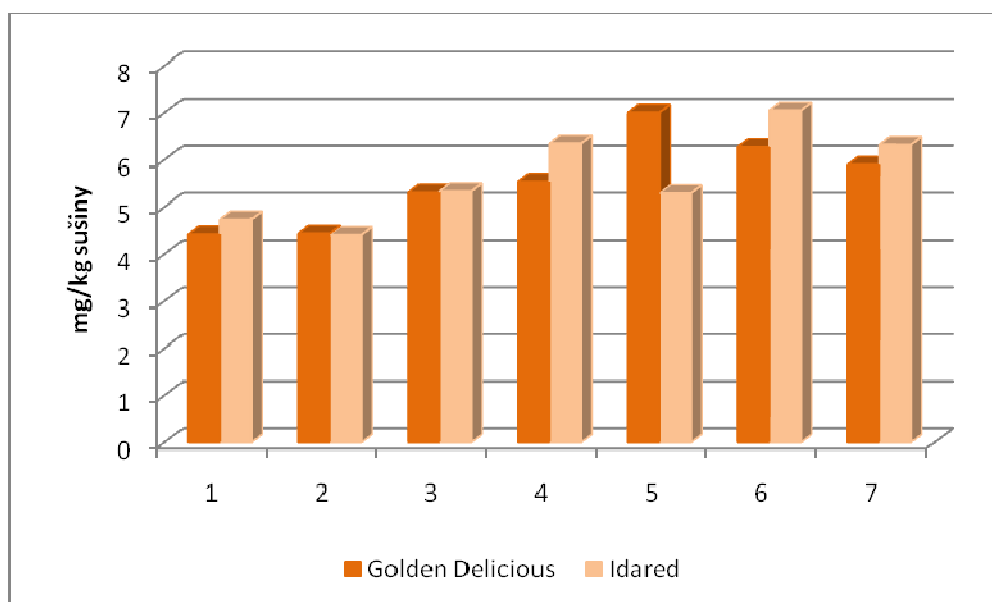
Z obou grafů můžeme říci, že hodnoty obsahu celkových polyfenolů se výrazně liší u každého jablka. Jablka jedné odrůdy, která byla odebrána ve stejný čas, mají výrazně odlišné hodnoty celkových polyfenolů. V průběhu skladování se obsah celkových polyfenolů nepatrně zvyšuje.

4.2.3.2 Srovnání obou odrůd

Tabulka 9 Celkové polyfenoly v jablkách skladovaných ve sklepě

odběr	Golden Delicious c [mg/kg sušiny]	Idared c [mg/kg sušiny]
1.	4,409	4,734
2.	4,426	4,397
3.	5,305	5,332
4.	5,538	6,352
5.	7,003	5,290
6.	6,276	7,050
7.	5,892	6,322

Graf 11 Srovnání obsahu celkových polyfenolů v jablkách uchovávaných ve sklepě



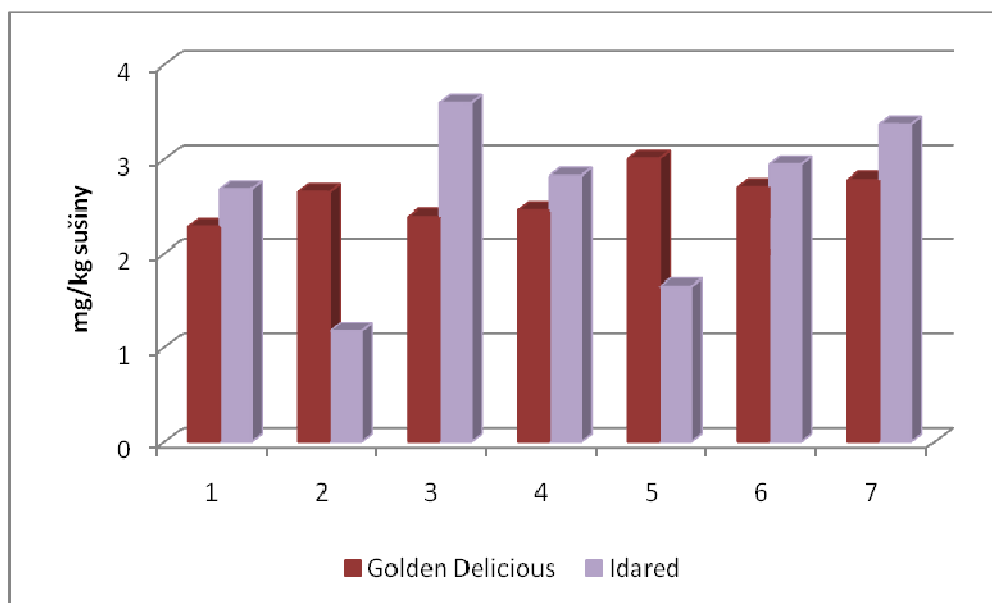
V grafu jsou uvedeny průměrné hodnoty dvou jablek z každé odrůdy. Obě odrůdy se výrazně neliší obsahem celkových polyfenolů. V průběhu skladování ve sklepě zaznamenáváme postupný mírný nárůst celkových polyfenolů.

4.2.4 Celkové flavonoidy

Tabulka 10 Celkové flavonoidy v jablkách skladovaných ve sklepě

odběr	Golden Delicious c [mg/kg sušiny]	Idared c [mg/kg sušiny]
1.	2,284	2,683
2.	2,653	1,178
3.	2,386	3,593
4.	2,452	2,823
5.	3,006	1,647
6.	2,705	2,944
7.	2,406	2,118

Graf 12 Srovnání celkových flavonoidů v jablkách skladovaných ve sklepě



Z grafu je vidět, že hodnota celkových flavonoidů převážně u odrůdy Idared výrazně kolísá. Ke konci skladování je zaznamenán u obou odrůd mírný nárůst obsahu celkových flavonoidů.

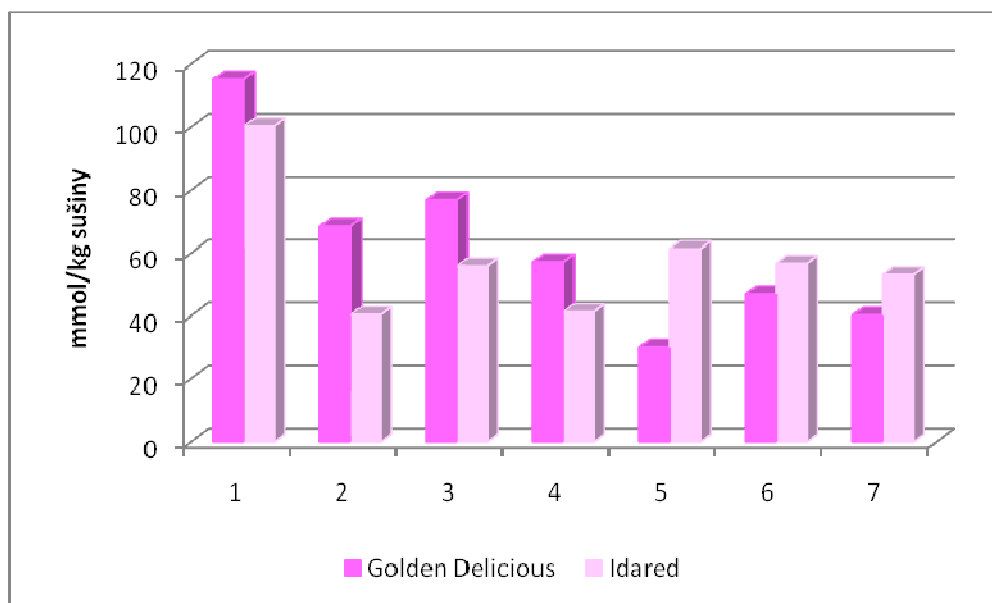
4.3 Jablka skladovaná v lednici

4.3.1 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Tabulka 11 Celková antioxidační aktivita v jablkách uchovávaných v lednici

odběr	Golden Delicious	Idared
	c [mmol/kg sušiny]	c [mmol/kg sušiny]
1.	115,38	100,37
2.	68,63	40,38
3.	76,80	55,87
4.	57,16	41,32
5.	30,00	61,30
6.	47,07	56,66
7.	40,23	53,04

Graf 13 Srovnání obsahu celkové antioxidační aktivity v jablkách skladovaných v lednici



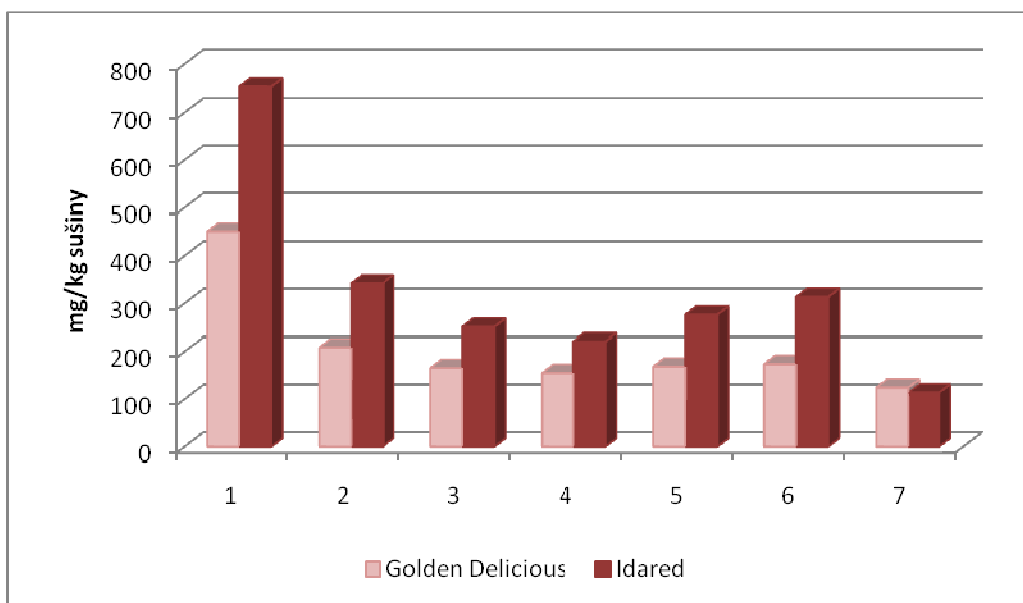
Celková antioxidační aktivita u obou odrůd po prvním týdnu skladování prudce klesla. Na konci uchovávání jablek antioxidační aktivita mírně stoupala. U odrůdy Golden Delicious byla antioxidační aktivita vyšší než u odrůdy Idared. Převaha celkové antioxidační aktivity odrůdy Idared nad odrůdou Golden Delicious vzrůstala až v závěru pokusu.

4.3.2 Vitamin C

Tabulka 12 Výsledky výpočtů obsahu vitaminu C v jablkách skladovaných v lednici

	Golden Delicious	Idared
odběr	c [mg/kg]	c [mg/kg]
1.	451,07	752,42
2.	208,44	341,70
3.	165,22	250,87
4.	155,01	220,62
5.	168,44	276,19
6.	173,75	313,33
7.	124,17	113,56

Graf 14 Srovnání obsahu vitamínu C v jablkách skladovaných v lednici



Obsah vitamínu C v obou odrůdách se po prvním týdnu skladování snížil asi na polovinu. V dalších týdnech obsah vitamínu C klesal, pokles však nebyl tak zřetelný. Na konci pokusu byl obsah vitamínu C v obou odrůdách srovnatelný. Vyšší hodnoty obsahu vitamínu C zaznamenáváme u odrůdy Idared.

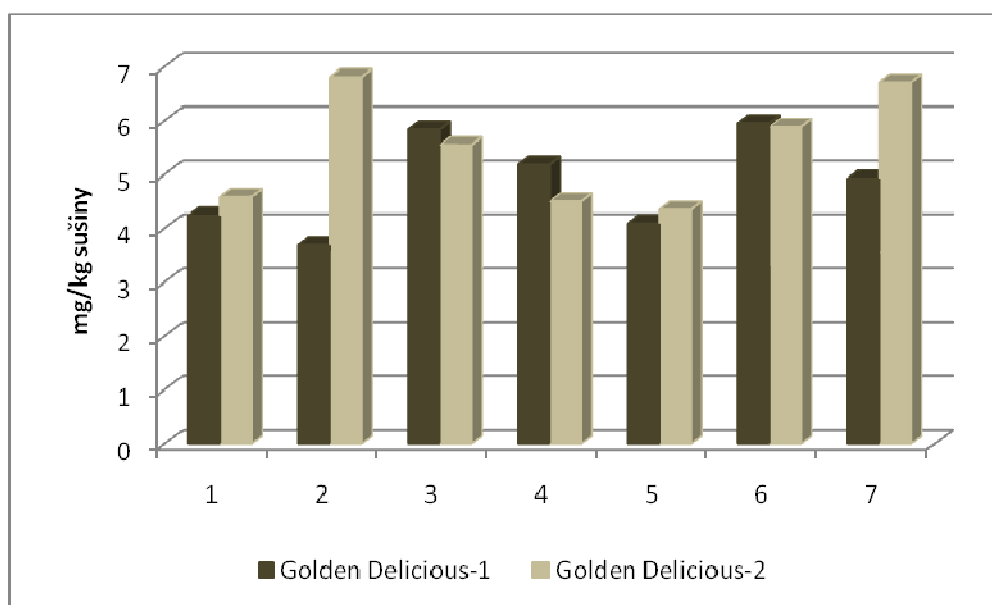
4.3.3 Celkové polyfenoly

4.3.3.1 Srovnání odrůdy Golden Delicious a odrůdy Idared

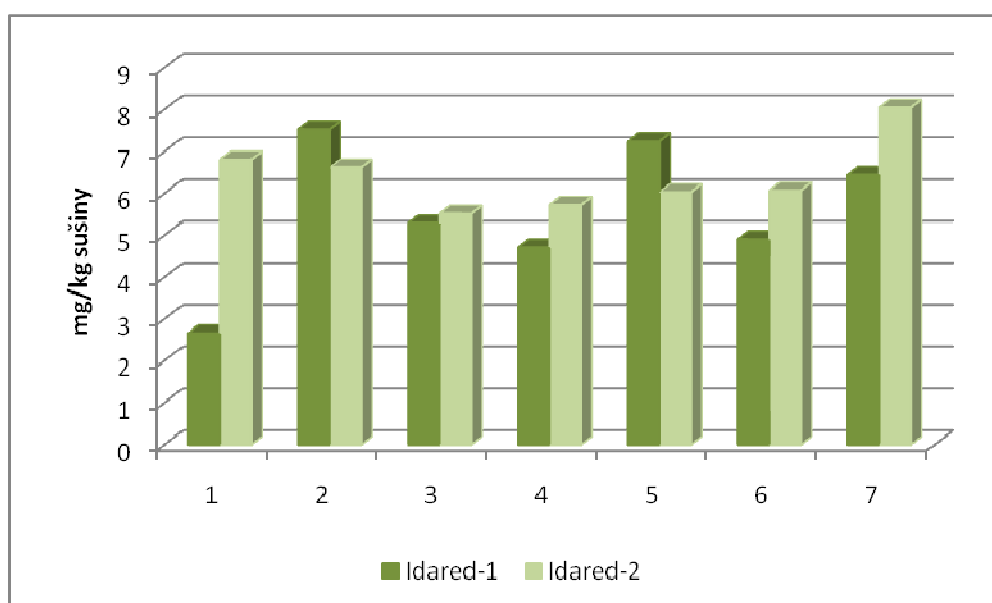
Tabulka 13 Celková antioxidační aktivita u odrůdy Golden Delicious a Idared

odběr	Golden Delicious-1		Golden Delicious-2		Idared-1		Idared-2	
	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD	c [mg/kg sušiny]	SD
1.	4,234	0,057	4,584	0,064	2,659	0,020	6,809	0,265
2.	3,683	0,129	6,812	0,057	7,532	0,064	6,621	0,034
3.	5,835	0,095	5,550	0,251	5,283	0,212	5,518	0,038
4.	5,185	0,200	4,502	0,094	4,703	0,129	5,727	0,210
5.	4,092	0,038	4,348	0,099	7,244	0,196	6,030	0,252
6.	5,951	0,079	5,886	0,067	4,899	0,029	6,069	0,055
7.	4,924	0,087	6,715	0,230	6,441	0,204	8,046	0,137

Graf 15 Srovnání obsahu celkových polyfenolů u odrůdy Golden Delicious



Graf 16 Srovnání obsahu celkových polyfenolů u odrůdy Idared



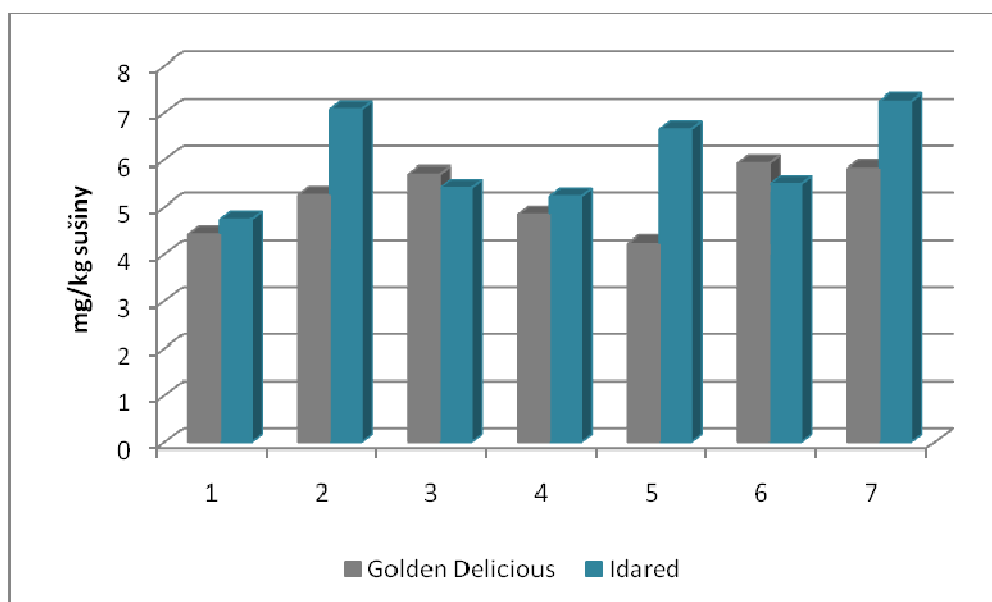
Grafy představují srovnání dvou odběrů u jedné odrůdy. Hodnoty dvou jablek odebraných ve stejný den se od sebe v některých případech výrazně liší. Můžeme z toho usoudit, že každý plod je zcela individuální. Hodnoty celkových polyfenolů vykazují v průběhu uchovávání v lednici podobný průběh jako při uchovávání ve sklepě.

4.3.3.2 Srovnání obou odrůd

Tabulka 14 Celkové polyfenoly v jablkách skladovaných v lednici

	Golden Delicious	Idared
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	4,409	4,734
2.	5,247	7,077
3.	5,692	5,400
4.	4,844	5,215
5.	4,220	6,637
6.	5,919	5,484
7.	5,820	7,244

Graf 17 Srovnání celkových polyfenolů v jablkách skladovaných v lednici



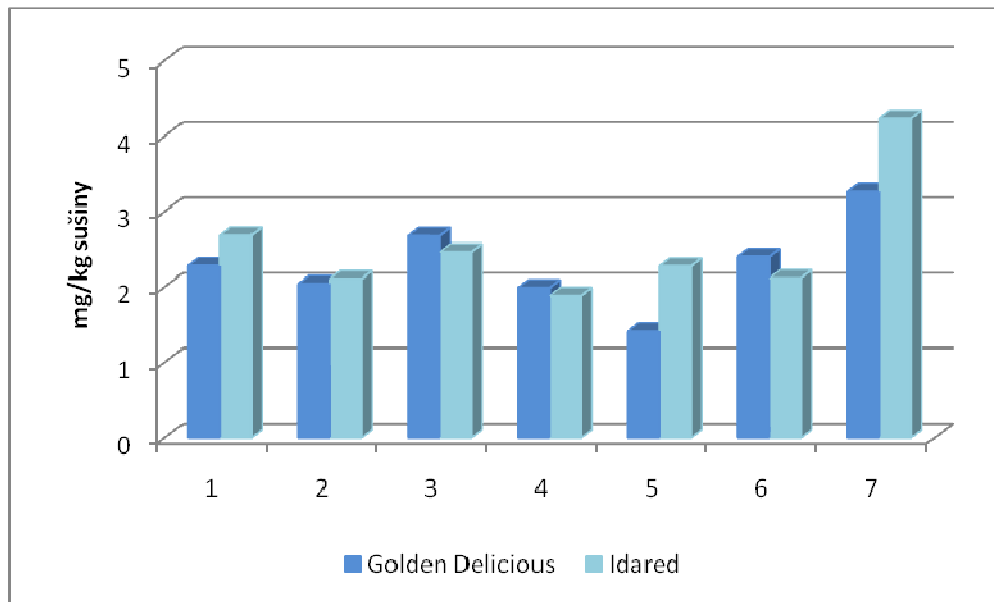
V grafu jsou porovnány průměry dvou odběrů v každém týdnu u každé odrůdy. Na začátku obsah celkových polyfenolů vzrůstá, v průběhu uchovávání se mírně snižuje a ke konci opět vzrůstá. Vyšší hodnoty celkových polyfenolů zaznamenáváme u odrůdy Idared.

4.3.4 Celkové flavonoidy

Tabulka 15 Celkové flavonoidy v jablkách uchovávaných v lednici

	Golden Delicious	Idared
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	2,284	2,683
2.	2,040	2,106
3.	2,678	2,466
4.	1,989	1,883
5.	1,416	2,278
6.	2,406	2,118
7.	3,267	4,234

Graf 18 Srovnání celkových flavonoidů v jablkách skladovaných v lednici



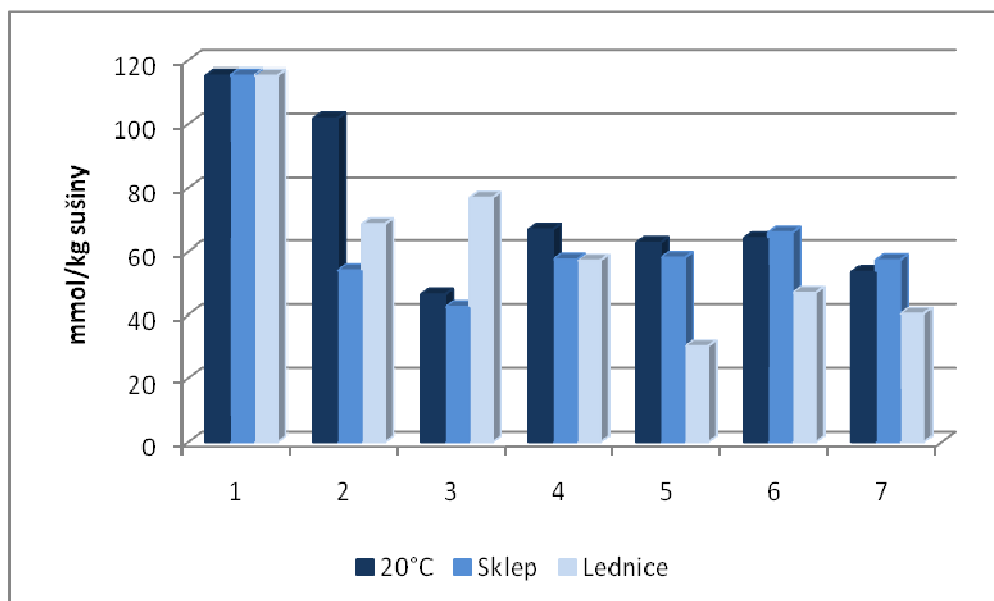
Obsah celkových flavonoidů se v obou odrůdách výrazně neliší. Zaznamenáváme mírný pokles obsahu flavonoidů v průběhu skladování. Ke konci uchovávání plodů dochází k výraznějšímu nárůstu obsahu flavonoidů u obou odrůd.

4.4 Skupinové antioxidanty - srovnání různých prostředí skladování

V následujících kapitolách budou srovnány hodnoty skupinových antioxidačních parametrů u jablek uchovávaných v různých prostředích.

4.4.1 Stanovení celkové antioxidační aktivity

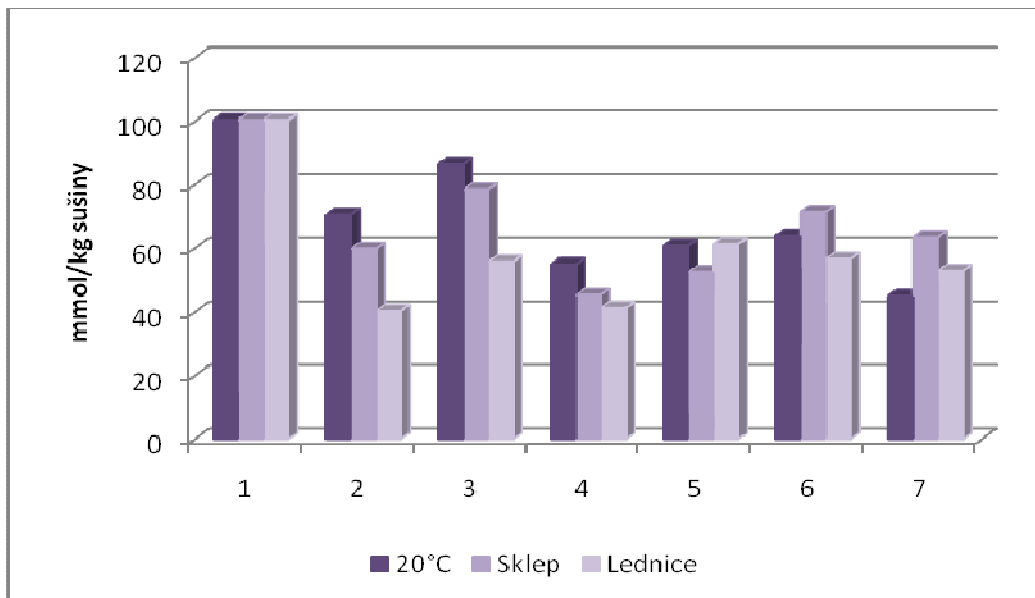
Graf 19 Srovnání celkové antioxidační aktivity v odrůdě Golden Delicious



Z grafu můžeme říci, že celková antioxidační aktivita odrůdy Golden Delicious je nejvyšší u jablek skladovaných při pokojové teplotě. Na počátku byly nejnižší hodnoty antioxidační aktivity zjištěny u jablek skladovaných ve sklepě. V průběhu skladování se hodnoty

antioxidační aktivity u jablek uchovávaných v lednici a ve sklepě vyrovnávaly a ke konci byla nejnižší antioxidační aktivita zaznamenána u jablek skladovaných v lednici. Je třeba dodat, že je o parametr, k jehož hodnotě přispívají (pozitivně i negativně) hodnoty všech antioxidantů přítomných v plodech.

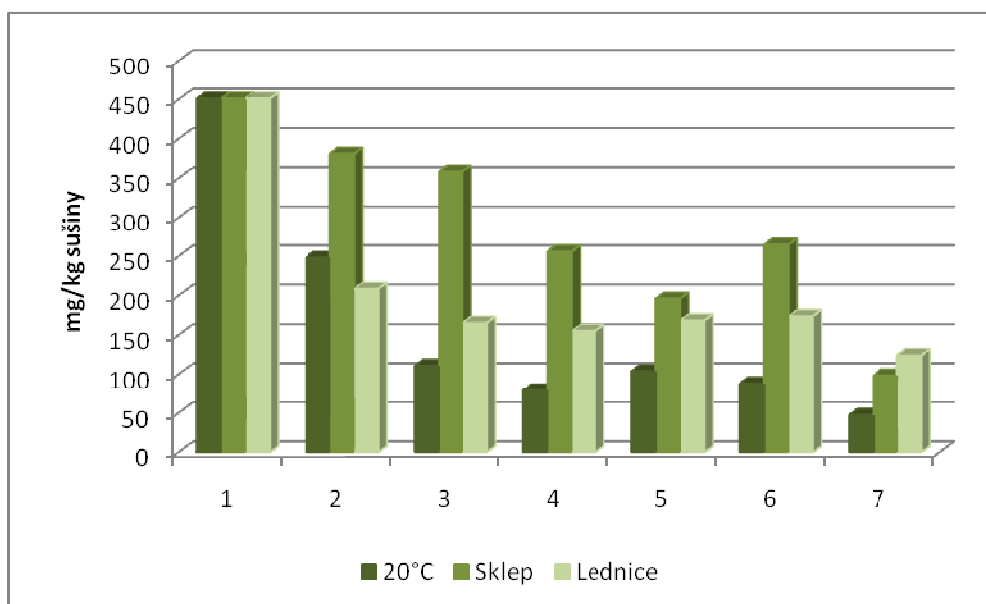
Graf 20 Srovnání celkové antioxidační aktivity v odrůdě Idared



Rovněž u jablek odrůdy Idareds antioxidační aktivita nejprve ve všech prostředích prudce klesá. Na konci pokusu již zjišťujeme mírný nárůst. Nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity zaznamenáváme u jablek uchovávaných při pokojové teplotě. Nejnižší hodnoty ukazuje skladování jablek v lednici.

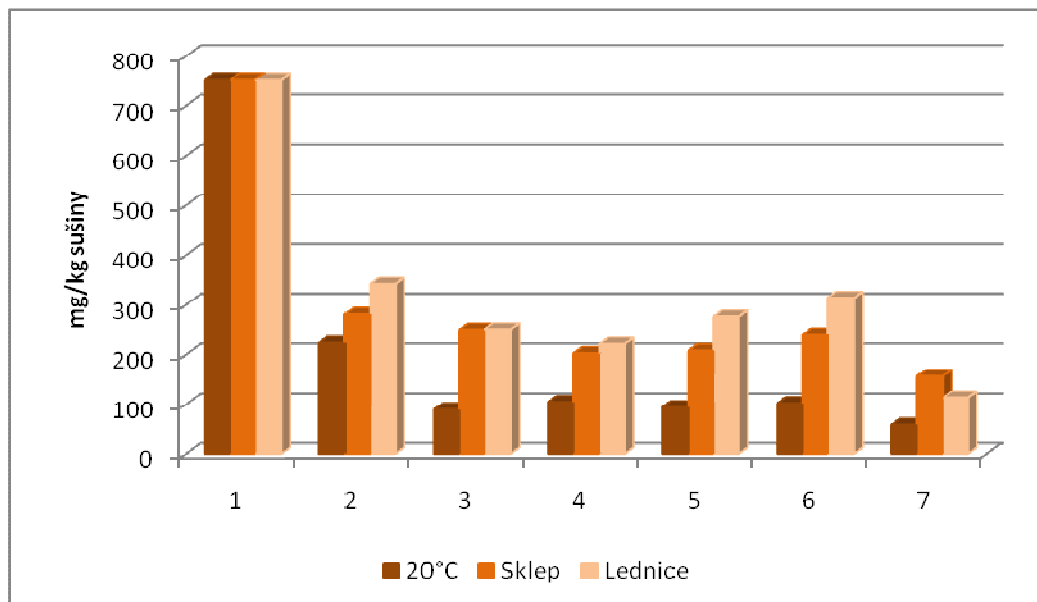
4.4.2 Vitamin C

Graf 21 Srovnání obsahu vitamínu C v odrůdě Golden Delicious



Ze srovnání výsledků můžeme říct, že obsah vitamínu C v odrůdě Golden Delicious významně klesá s dobou skladování. Největší pokles zaznamenáváme ve všech prostředích po prvním týdnu skladování. Následující týdny obsah vitamínu C neklesá již tak prudce a pokles značně závisí na typu prostředí. Odrůda Golden Delicious uchovávaná ve sklepě (9°C, 38,4 %) si zachovává nejvíce vitamínu C. Nejméně vitamínu C najdeme při skladování jablek při pokojové teplotě, kdy výchozí hodnota klesla za 2 měsíce asi na desetinu původního obsahu.

Graf 22 Srovnání obsahu vitamínu C v odrůdě Idared

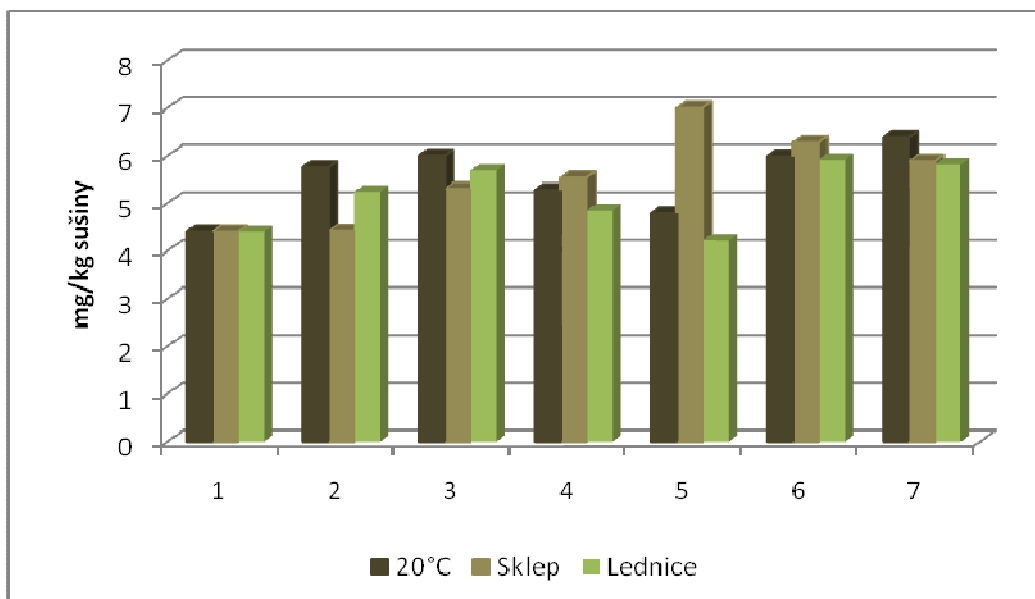


Největší pokles vitamínu C v odrůdě Idared byl rovněž zaznamenán po prvním týdnu skladování. Obsah vitamínu C u jablek odrůdy Idared uchovávaných ve sklepě a v lednici je srovnatelný. Při uchovávání jablek odrůdy Idared při pokojové teplotě byl zaznamenán největší pokles obsahu vitamínu, až 20-krát nižší hodnota než na začátku experimentu.

Celkově lze shrnout, že askorbát je antioxidační parametr, který vykazuje nejvyšší úbytky v průběhu skladování, jeho pokles zřejmě významně přispívá i k postupnému poklesu hodnoty celkové anioxidační aktivity.

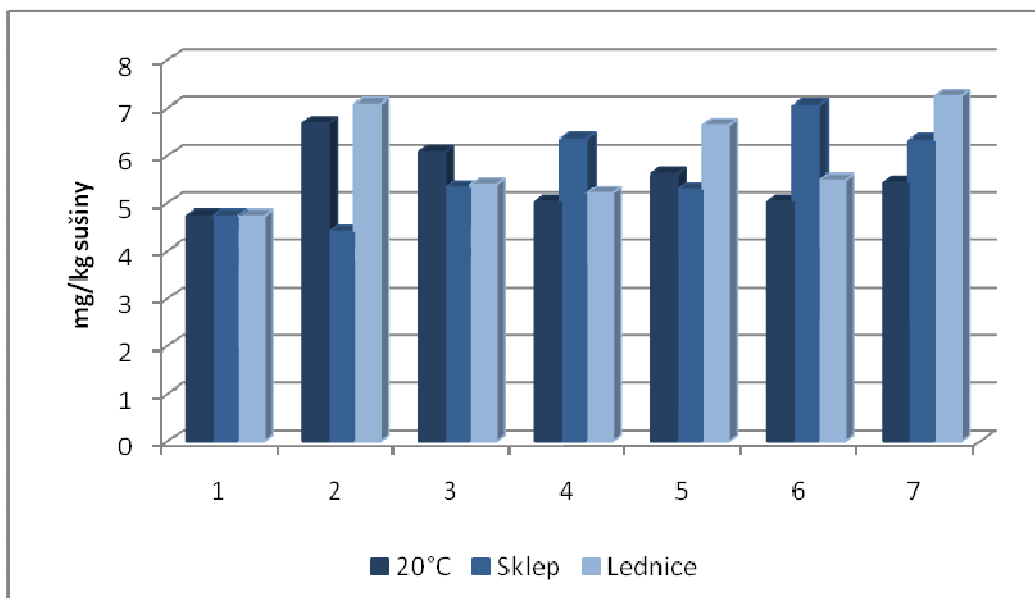
4.4.3 Celkové polyfenoly

Graf 23 Srovnání celkových polyfenolů v odrůdě Golden Delicious



Hodnoty celkových polyfenolů se ve všech prostředích liší pouze minimálně. V průběhu skladování ve všech prostředích nejprve obsah celkových polyfenolů vzrůstá, pak zaznamenáváme mírný pokles a ke konci uchovávání hodnoty opět mírně stoupají. Vzestup je zaznamenán u všech prostředí a bude zřejmě souviset zejména se změnou koncentrace kyslíku při uchovávání, případně i s teplotou a stupněm zrání. Jablka byla jistě skladována ještě před zahájením experimentu, ale pravděpodobně v atmosféře s jiným obsahem kyslíku.

Graf 24 Srovnání celkových polyfenolů v odrůdě Idared

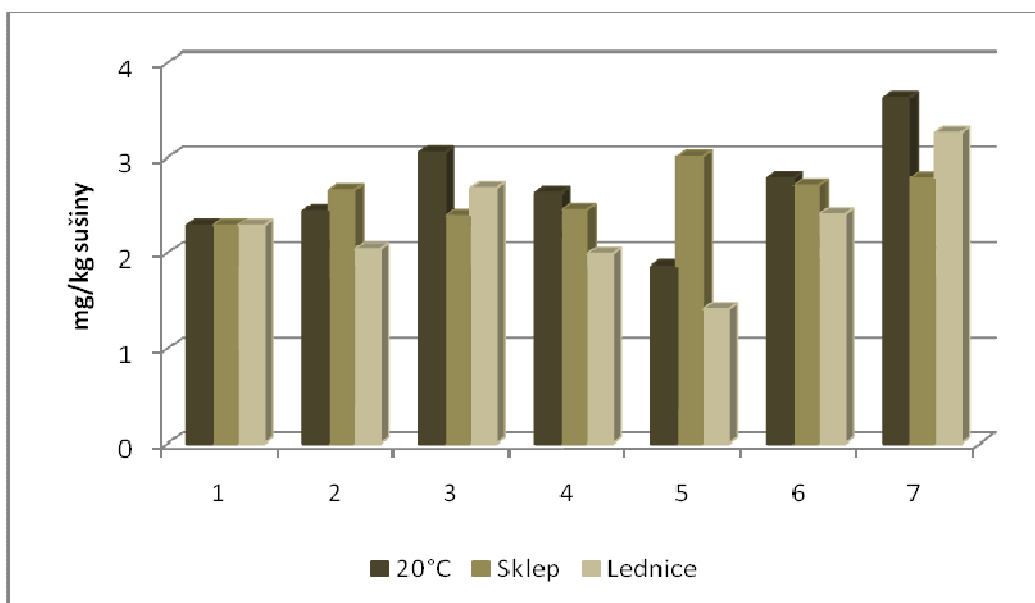


V odrůdě Idared byly zaznamenány větší rozdíly mezi různými prostředími než u odrůdy Golden Delicious. Po prvním týdnu skladování se hodnoty celkových polyfenolů zvýšily při skladování jablek v lednici a při pokojové teplotě, při uchovávání jablek ve sklepě se hodnota

celkových polyfenolů po prvním týdnu skladování nepatrně snížila. V průběhu skladování docházelo k menším výkyvům. Na konci pokusu obsah celkových polyfenolů nepatrně vzrůstal. Celkově se hodnoty polyfenolů u jablek odrůdy Idared mění méně než u Golden Delicious, což může souviset s odrůdovými rozdíly v délce uchovatelnosti, případně rozdíly v charakteru podmínkách předchozího uskladnění jablek před zahájením experimentu.

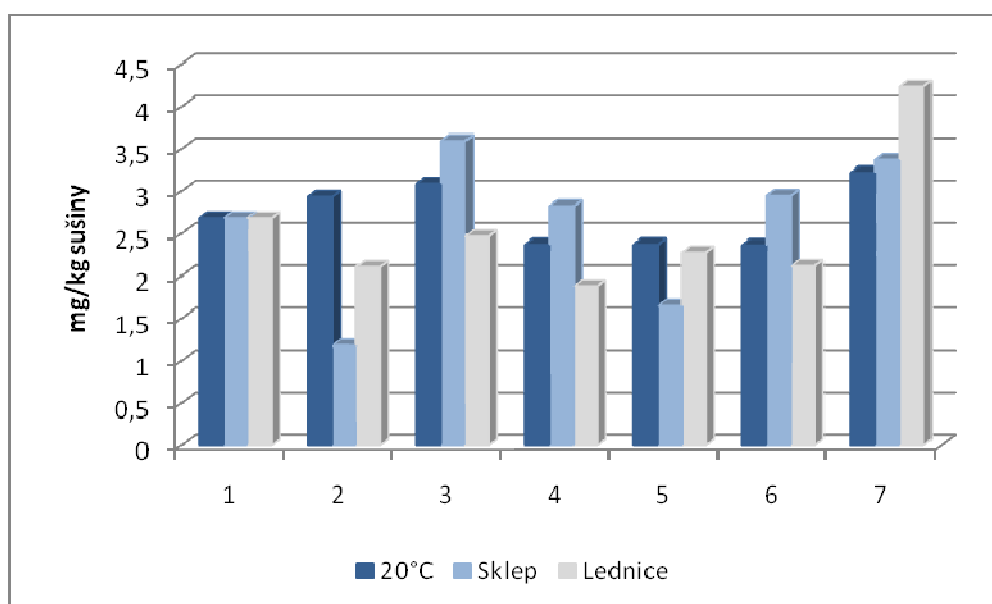
4.4.4 Celkové flavonoidy

Graf 25 Srovnání celkových flavonoidů v odrůdě Golden Delicious



Hodnoty celkových flavonoidů se v průběhu uchovávání ve všech skladovacích podmínkách výrazně neliší. Ke konci uchovávání zaznamenáváme výraznější nárůst obsahu celkových flavonoidů. Tento nárůst je nejvýraznější u jablek skladovaných při pokojové teplotě a v lednici, nejpomaleji u jablek uchovávaných ve sklepě.

Graf 26 Srovnání celkových flavonoidů v odrůdě Idared



U odrůdy Idared zaznamenáváme výraznější výkyvy než u odrůdy Golden Delicious. U jablek skladovaných ve sklepě a v lednici nejprve hodnota celkových flavonoidů klesá, poté dochází k nárůstu a v polovině skladování zase zaznamenáváme mírný pokles. Na konci uchovávání obsah celkových flavonoidů mírně roste. Jablka skladovaná při pokojové teplotě zaznamenávají mírný nárůst, v polovině skladování obsah celkových flavonoidů mírně klesá a na konci dochází k přírůstku. Největší přírůstek obsahu celkových flavonoidů ke konci skladování zaznamenáváme u jablek skladovaných v lednici, nejmenší u jablek uchovávaných ve sklepě. Přírůstek obsahu flavonoidů (i polyfenolů) v dlouhodobě skladovaných jablkách může být způsoben jak změnami spojenými s dodatečným zráním, tak i změnami vyvolanými rostoucím oxidačním stresem a mobilizací antioxidantních obranných systémů v plodech.

4.4.5 Stanovení individuálních flavonoidů metodou HPLC

Stanovení flavonoidů, zejména typu katechinů, bylo provedeno pomocí HPLC postupem uvedeným v kapitole 3.5. Z každého odběru jablek a hrušek a z každé odrůdy byly odebrány dva plody, analyzovány vybrané deriváty a ze získaných hodnot byl poté vypočítán průměr. Píky, které tvořily katechin a epikatechin, byly sečteny dohromady, protože oba deriváty jsou polohové izomery a mají podobné retenční časy, přičemž v některých chromatogramech je epikatechin obsažen v píku katechinu, dochází tedy ke koeluci a pravděpodobně jsou v píku zachyceny i další neidentifikované deriváty. Podobně byly hodnoceny kvantitativní výsledky obsahu katechingallátu a epikatechingallátu.

4.4.5.1 Stanovení katechinů a epikatechinů pomocí HPLC

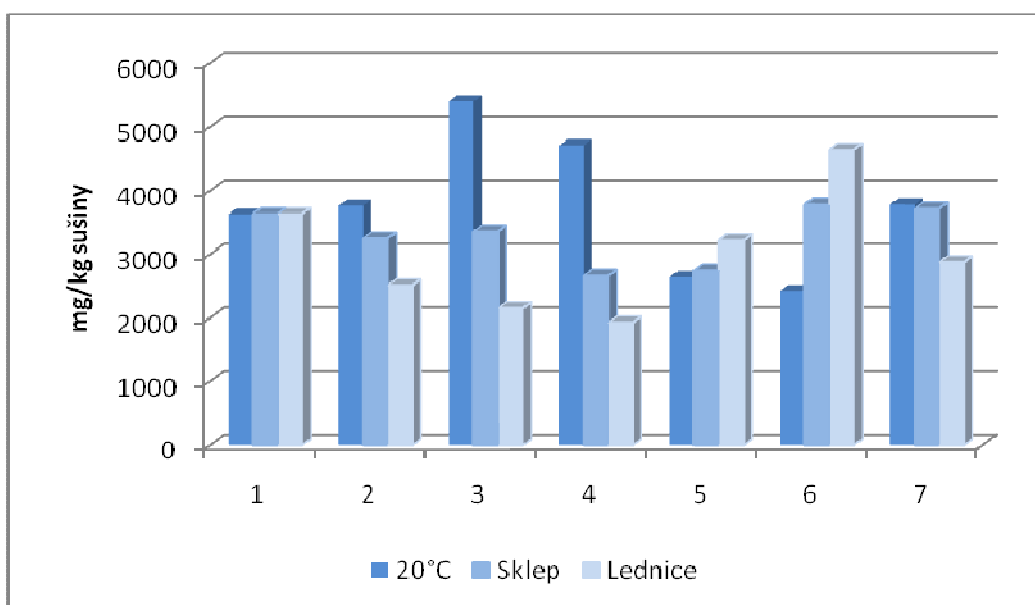
Tabulka 16 Obsah katechinů a epikatechinů u odrůdy Golden Delicious

	20 °C	Sklep	Lednice
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	3630,39	3630,39	3630,39
2.	3764,83	3249,84	2512,65
3.	5396,69	3357,93	2151,31
4.	4713,56	2660,67	1928,67
5.	2641,47	2744,47	3217,90
6.	2427,65	3778,72	4644,47
7.	3783,27	3717,32	2878,35

Tabulka 17 Obsah katechinů a epikatechinů u odrůdy Idared

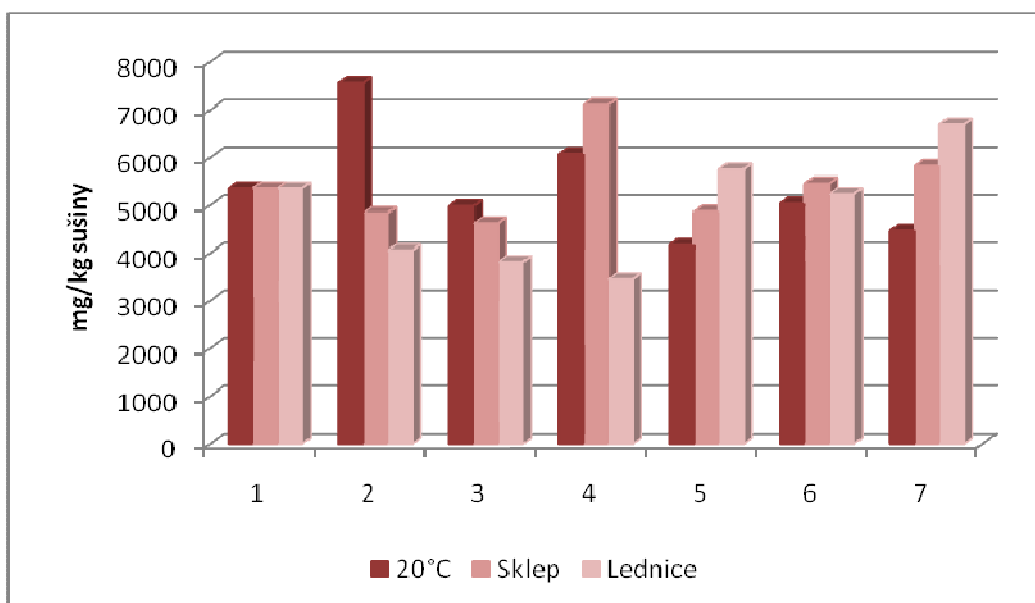
	20 °C	Sklep	Lednice
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	5360,31	5360,31	5360,31
2.	7575,04	4838,65	4060,41
3.	4987,64	4630,83	3811,61
4.	6083,70	7110,99	3447,48
5.	4171,09	4872,95	5753,60
6.	5040,91	5462,42	5238,05
7.	4472,19	5827,31	6696,48

Graf 27 Srovnání katechinů a epikatechinů u odrůdy Golden Delicious



Hodnoty katechinů a epikatechinů v jablkách skladovaných při pokojové teplotě nejprve v průběhu skladování rostou, poté zaznamenáváme pokles a na závěr skladování mírný nárůst. U jablek skladovaných ve sklepě a v lednici nejprve obsah katechinů a epikatechinů klesá, na závěr dochází k postupnému narůstání. Hodnoty individuálních flavonoidů vykazují podobný průběh jako u celkových flavonoidů.

Graf 28 Srovnání katechinů a epikatechinů u odrůdy Idared



Průběh obsahu katechinů a epikatechinů u odrůdy Idared probíhá podobně jako u odrůdy Golden Delicious. Ve všech prostředích je větší obsah katechinů a epikatechinů v odrůdě Idared než v odrůdě Golden Delicious. Rovněž jako u odrůdy Golden Delicious dochází u odrůdy Idared ke konci uchovávání k mírnému nárůstu katechinů a epikatechinů.

4.4.5.2 Stanovení kyseliny chlorogenové pomocí HPLC

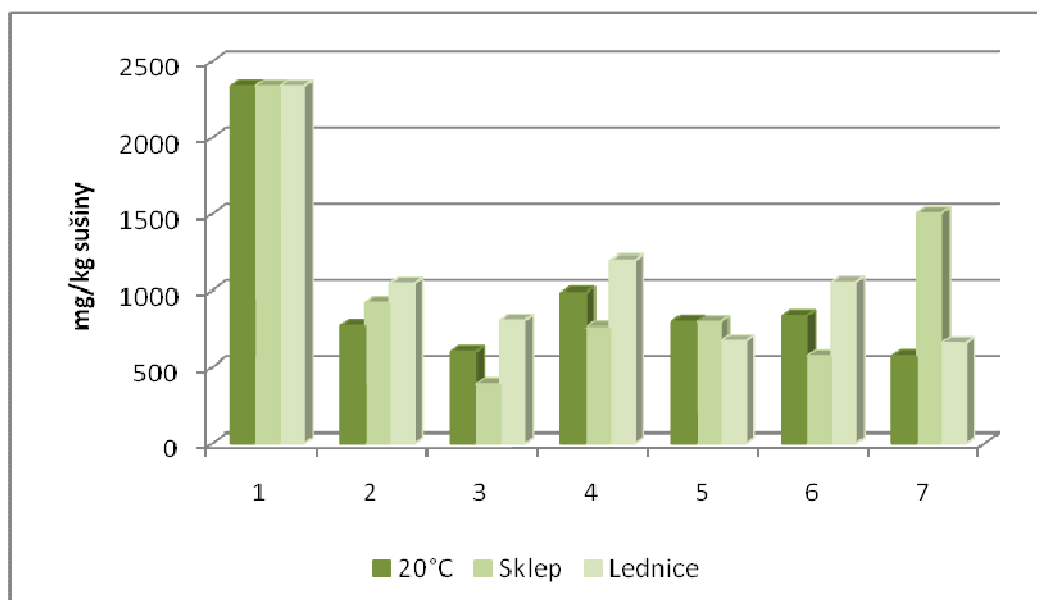
Tabulka 18 Obsah kyseliny chlorogenové u odrůdy Golden Delicious

	20 °C	Sklep	Lednice
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	2340,21	2340,21	2340,21
2.	766,66	922,70	1045,40
3.	599,14	386,77	801,92
4.	984,76	758,01	1199,19
5.	793,77	792,74	670,91
6.	831,12	568,14	1052,10
7.	569,55	1504,24	656,90

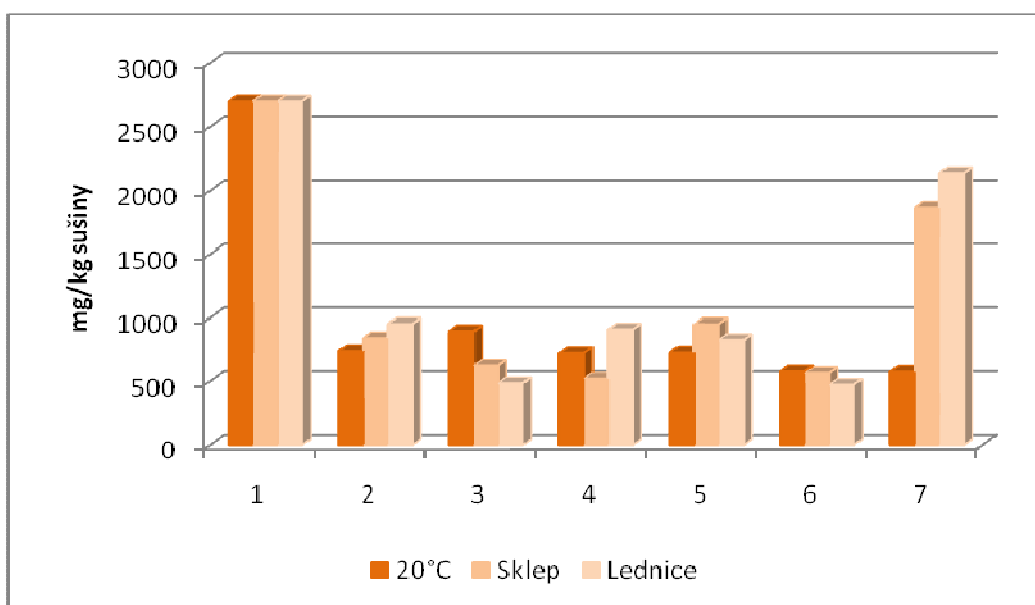
Tabulka 19 Obsah kyseliny chlorogenové u odrůdy Idared

	20 °C	Sklep	Lednice
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	2697,71	2697,71	2697,71
2.	735,32	838,97	952,24
3.	893,34	628,04	484,45
4.	718,65	521,21	908,84
5.	722,48	949,98	822,86
6.	580,46	567,22	471,19
7.	577,76	1862,34	2132,78

Graf 29 Srovnání kyseliny chlorogenové u odrůdy Golden Delicious



Graf 30 Srovnání kyseliny chlorogenové u odrůdy Idared



U obou odrůd jablek byl zaznamenán v podstatě stejný průběh. Po prvním týdnu skladování dochází ve všech prostředích k velkému poklesu obsahu kyseliny chlorogenové. V průběhu skladování se pak už obsah kyseliny chlorogenové výrazně nemění. K velkému nárůstu dochází až ke konci skladování, kdy se výrazně zvyšuje obsah kyseliny chlorogenové u odrůdy Golden Delicious skladované ve sklepě a u odrůdy Idared skladované ve sklepě a v lednici. Kyselina chlorogenová patří k nejvýznamnějším a nejvíce zastoupeným antioxidantům flavonoidní povahy přítomným v plodech jablek. Její pokles může být způsoben podobně jako u askorbátu postupnými negativními změnami plodů spojenými s dlouhodobým skladováním, může dojít k postupnému rozkladu nebo i k vyčerpání vlivem mobilizace antioxidačních systémů plodu.

4.4.5.3 Stanovení katechingallátu a epikatechingallátu pomocí HPLC

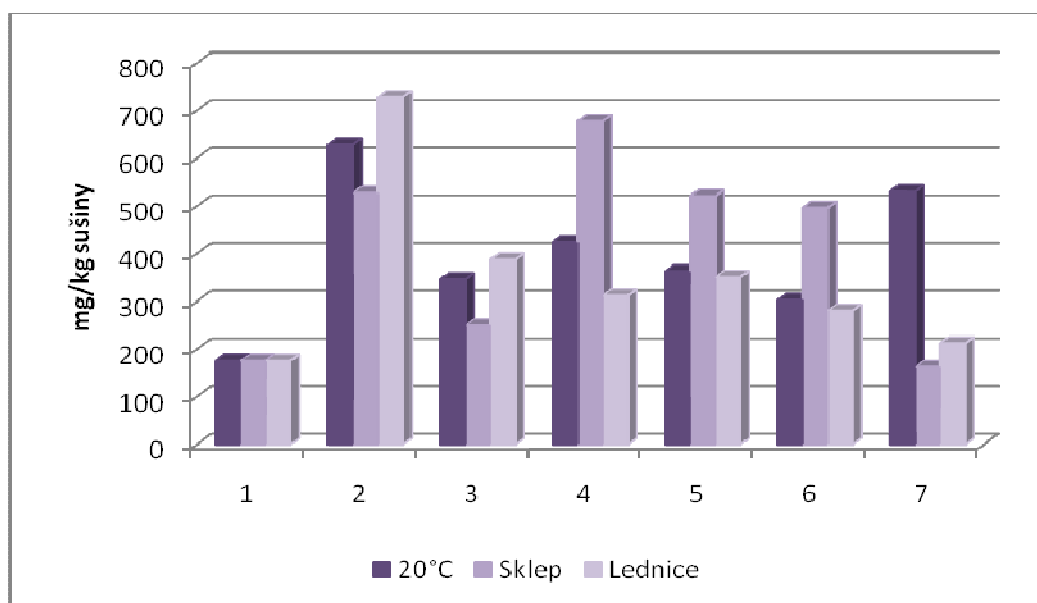
Tabulka 20 Obsah katechingallátů a epikatechingallátů u odrůdy Golden Delicious

odběr	20 °C	Sklep	Lednice
	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	175,23	175,23	175,23
2.	628,59	527,53	729,14
3.	346,82	249,78	387,37
4.	424,77	676,95	311,94
5.	363,09	520,98	351,06
6.	302,71	496,28	280,83
7.	530,49	162,21	212,40

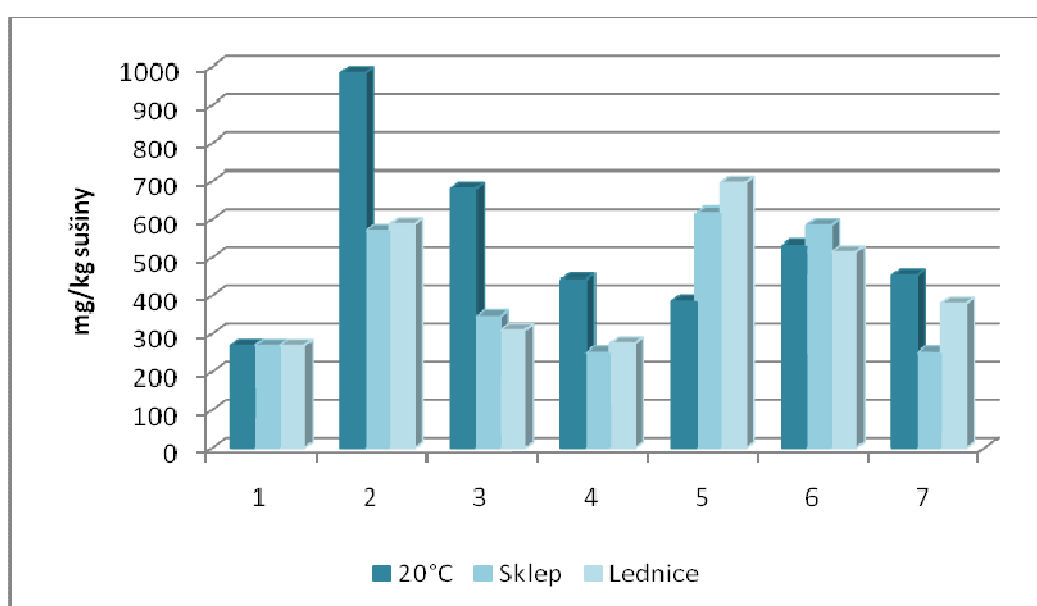
Tabulka 21 Obsah katechingallátů a epikatechingallátů u odrůdy Idared

	20 °C	Sklep	Lednice
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	267,63	267,63	267,63
2.	984,42	569,43	587,20
3.	680,58	345,33	309,57
4.	441,89	251,05	274,07
5.	384,37	617,00	696,72
6.	531,03	584,37	514,56
7.	451,79	250,57	378,72

Graf 31 Srovnání katechingallátů a epikatechingallátů u odrůdy Golden Delicious



Graf 32 Srovnání katechingallátů a epikatechingallátů u odrůdy Idared



U odrůdy Golden Delicious i Idared zaznamenáváme i v případě změn obsahu katechingallátu stejný průběh. Po prvním týdnu skladování dochází k prudkému nárůstu katechingallátu a epikatechingallátu ve všech prostředích. Poté dochází k poklesu a na závěr k mírnému nárůstu jejich obsahu.

U odrůdy Golden Delicious je obsaženo nejvíce katechingallátu a epikatechingallátu v jablkách skladovaných ve sklepě a nejméně v jablkách uchovávaných v lednici. U odrůdy Idared nejvíce kolísají hodnoty u jablek skladovaných při pokojové teplotě.

Hodnoty gallátů vykazují podobné trendy jako hodnoty katechinů a přispívají zřejmě k výsledným rostoucím hodnotám celkových flavonoidů i polyfenolů. Je zajímavé, že i hodnoty různých druhů individuálních flavonoidů vykazují výrazně odlišný průběh během uchovávání v různém prostředí; některé spíše rostou, jiné naopak klesají. Je pravděpodobné, že v plodech působí i tyto deriváty komplexně, doplňují se a jako směs přispívají k celkové změně kvality, chuti i barvy plodů.

4.5 Hrušky

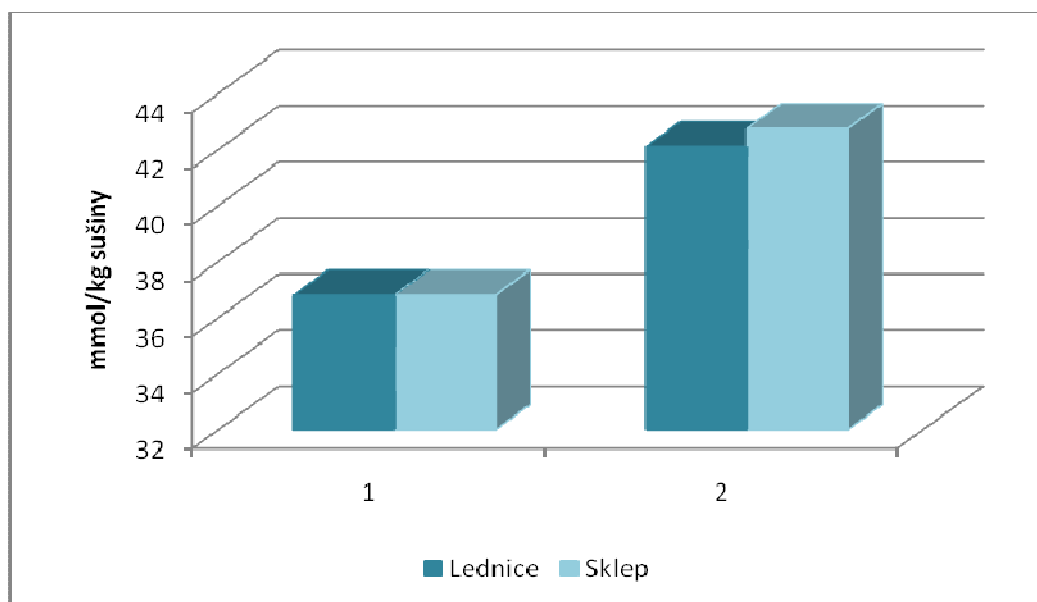
Ve hruškách byly aktivní látky sledovány ihned po zakoupení a poté po prvním týdnu po uskladnění. Další měření nebylo možné z důvodu podstatného poklesu kvality plodů hrušek. Hrušky byly uchovávány pouze v lednici a ve sklepě.

4.5.1 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Tabulka 22 Celková antioxidační aktivita v hruškách

	Lednice	Sklep
odběr	c [mmol/kg sušiny]	c [mmol/kg sušiny]
1.	36,81	36,81
2.	42,10	42,74

Graf 33 Srovnání celkové antioxidační aktivity v hruškách



Antioxidační aktivita je v obou prostředích srovnatelná. Po prvním týdnu skladování byl zaznamenán nárůst celkové antioxidační aktivity oproti počátečnímu stanovení.

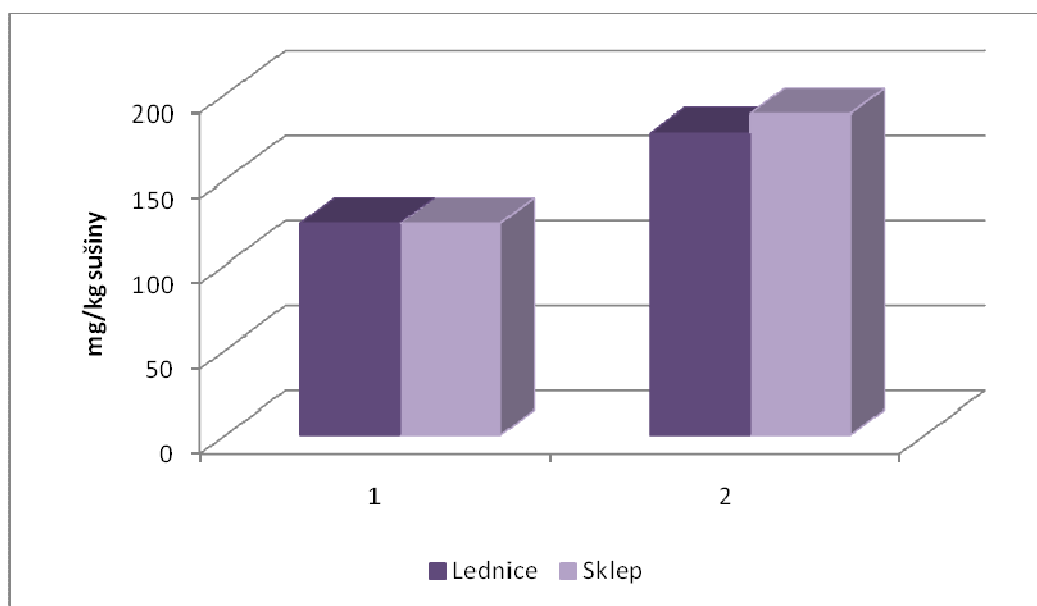
4.5.2 Vitamin C

Vitamin C byl stejně jako u jablek stanoven titračně. Výsledky byly přepočteny na mg v jednom kg suchého podílu. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 23 Obsah vitamínu C v hruškách

odběr	Lednice	Sklep
	c [mg/kg]	c [mg/kg]
1.	124,43	124,43
2.	177,24	188,46

Graf 34 Srovnání obsahu vitamínu C v hruškách



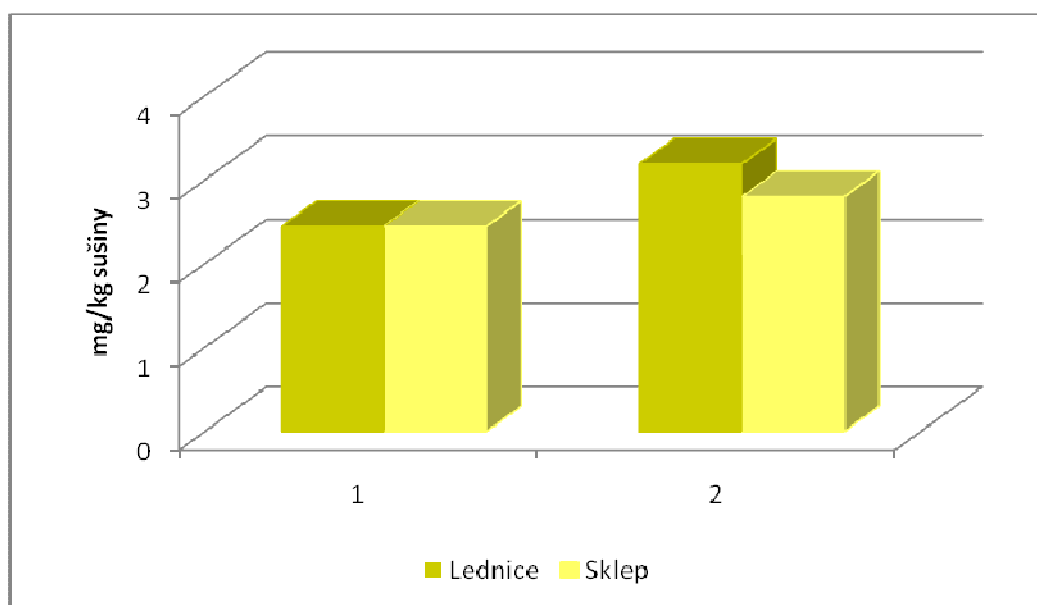
Z grafu je vidět, že obsah vitamínu C se po týdnu skladování zvýšil jak ve sklepě, tak v lednici. Obsah vitamínu C v hruškách uchovávaných ve sklepě je srovnatelný s obsahem vitamínu C v hruškách skladovaných v lednici.

4.5.3 Celkové polyfenoly

Tabulka 24 Celkové polyfenoly v hruškách

odběr	Lednice		Sklep	
	c [mg/kg sušiny]	odchylka	c [mg/kg sušiny]	odchylka
1.	2,445	0,069	2,445	0,069
2.	3,191	0,077	2,800	0,084

Graf 35 Srovnání celkových polyfenolů v hruškách



Z grafu můžeme říci, že obsah celkových polyfenolů po týdnu skladování nepatrně vzrostl. V hruškách uchovávaných v lednici byla hodnota celkových polyfenolů vyšší než v hruškách uchovávaných ve sklepě.

Hodnoty skupinových parametrů ve zrychleně zrajících (či degradujících) plodech hrušek po 1 týdnu uchování většinou (s výjimkou askorbátu) odpovídají hodnotám vyskytujícím se v plodech jablek až po 8 týdnech skladování. Vlivem degradace plodů dochází tedy v plodech ke zvýšení hodnot antioxidantů, což může být způsobeno jak procesy v plodech, tak i změnou konzistence tkání a možností lepší a účinnější extrakce antioxidantů.

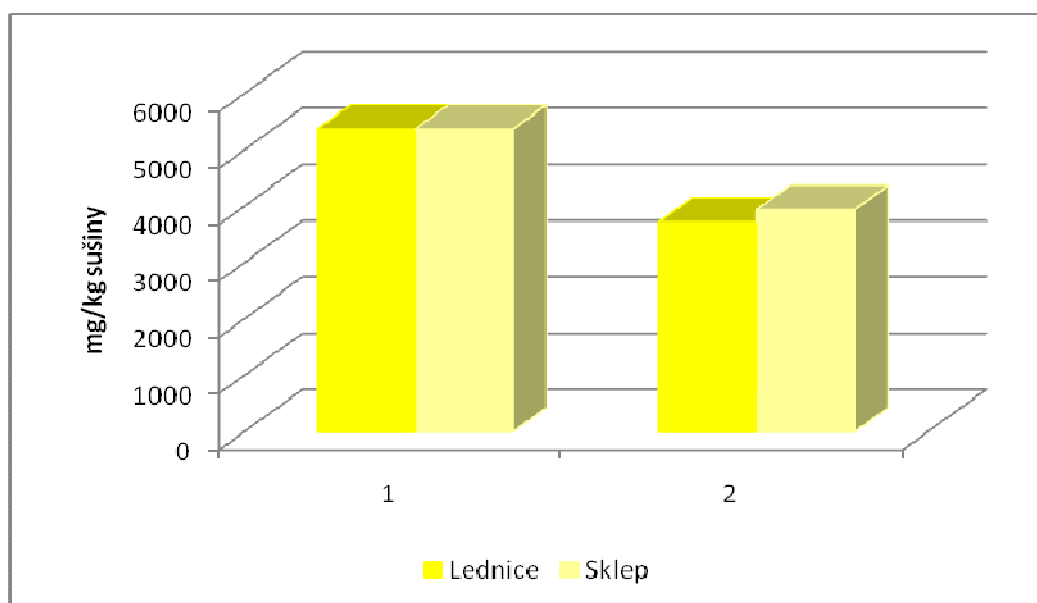
4.5.4 Stanovení pomocí HPLC

Při stanovení bylo postupováno stejně jako u jablek. Postup je uveden v kapitole 3.5.

Tabulka 25 Obsah katechinů a epikatechinů v hruškách

	Lednice	Sklep
odběr	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	5370,81	5370,81
2.	3720,88	3941,38

Graf 36 Stanovení katechinů a epikatechinů

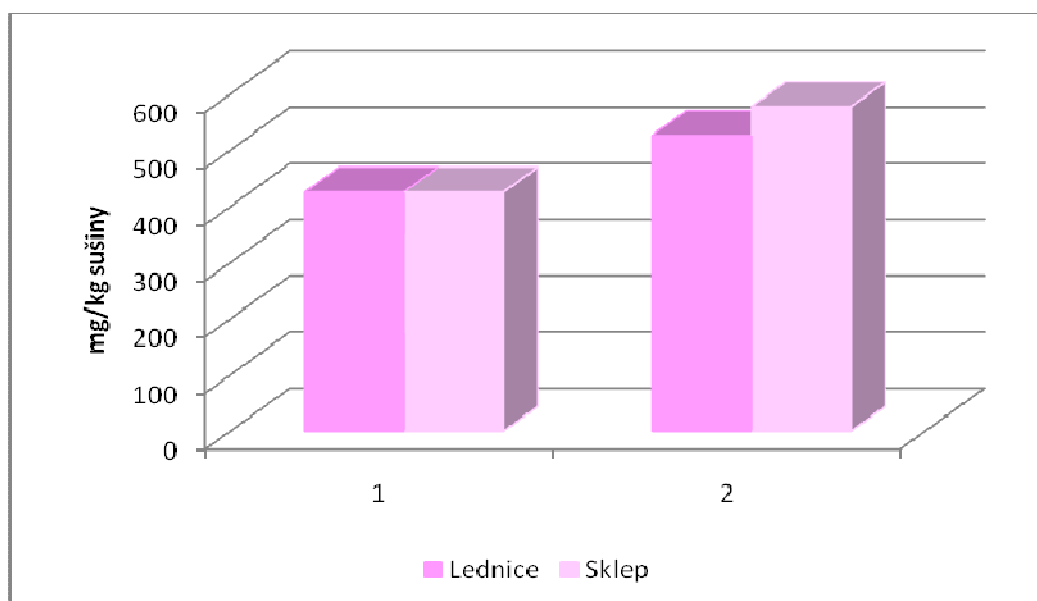


V hruškách obsah katechinů i epikatechinů v obou prostředích klesá. Při srovnání prostředí se obsah katechinů a epikatechinů výrazně neliší. Nepatrně vyšší je v jablkách skladovaných ve sklepě.

Tabulka 26 Obsah kyseliny chlorogenové v hruškách

odběr	Lednice c [mg/kg sušiny]	Sklep c [mg/kg sušiny]
1.	425,47	425,47
2.	526,29	576,99

Graf 37 Stanovení kyseliny chlorogenové

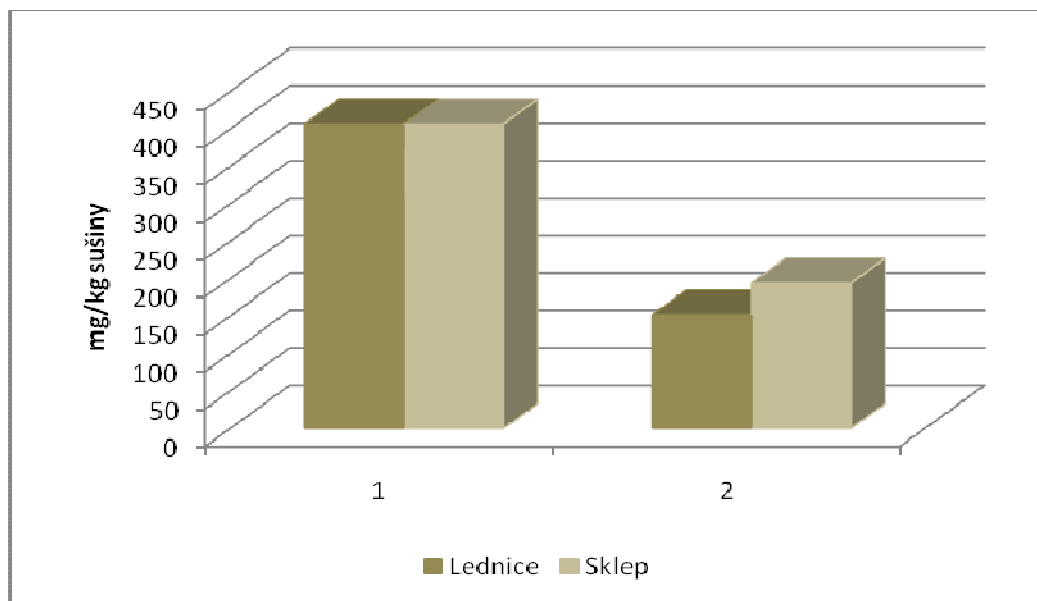


Obsah kyseliny chlorogenové v průběhu skladování v obou prostředích nepatrně vzrostl. V obou prostředích nejsou výrazné odlišnosti v obsahu kyseliny chlorogenové. Nepatrně vyšší je v hruškách uchovávaných ve sklepě.

Tabulka 27 Obsah katechingallátů a epikatechingallátů v hruškách

odběr	Lednice	Sklep
	c [mg/kg sušiny]	c [mg/kg sušiny]
1.	406,15	406,15
2.	151,21	193,77

Graf 38 Stanovení katechingallátu a epikatechingallátu



Obsah katechingallátů a epikatechingallátů po prvním týdnu skladování prudce klesl v obou prostředích. Vyšší obsah katechingallátů a epikatechingallátů zaznamenáváme u jablek skladovaných ve sklepě.

Změny obsahu individuálních flavonoidů v plodech hrušek vykazují v podstatě opačnou tendenci jako v plodech jablek, což je dáno odlišným druhem ovoce a zřejmě rozdílným zastoupením a rolí jednotlivých derivátů v hruškách. Celkový obsah katecinů v hruškách je vyšší než v plodech jablek.

4.6 Povrchová mikroflóra

K analýze povrchové mikroflóry byly použity kontaktní jednorázové testy používané ke stanovení celkových bakterií a hub. Na začátku skladování nebyl povrch jablek ani hrušek kontaminován téměř žádnými bakteriemi ani plísněmi.

4.6.1 Envirocheck® Contact YM(R)

4.6.1.1 CASO (Tryptic Soy) Agar

Po prvním týdnu byl počet bakterií u všech jablek na tomto agaru přibližně 3,5 cfu/cm². V průběhu skladování se pak počet bakterií příliš nezvyšoval. Ke konci skladování zaznamenáváme výraznější vzestup bakterií u jablek skladovaných v lednici a při pokojové teplotě. Jejich počet je přibližně 17 cfu/cm².

Hrušky po prvním týdnu skladování obsahovaly 17 cfu/cm² bakterií.

4.6.1.2 Rose Bengal Chloramphenicol Agar (R)

Plísně se vyskytovaly až ke konci skladování pouze u jablek uchovávaných v lednici. Jejich počet odhadujeme na 0,6 cfu/cm². Na hruškách nebyl výskyt plísní zaznamenán.

4.6.2 Envirocheck® Contact TVC

4.6.2.1 Nutrient Agar obsahuje TTC

U všech jablek i hrušek se po celou dobu skladování vyskytovalo 3,5 cfu/cm² bakterií.

4.6.2.2 Nutrient Agar

Plísně se vyskytovaly pouze u jablek uchovávaných v lednici a při pokojové teplotě a to až ke konci skladování. Jejich počet byl 0,6 cfu/cm². U hrušek se plísně nevyskytovaly.

5 DISKUZE

V předložené práci byly sledovány hladiny nízkomolekulárních antioxidantů u dvou odrůd jablek skladovaných ve třech různých prostředích a u jedné odrůdy hrušek ve dvou různých prostředích. K testování byly použity nejčastěji dodávané a konzumované tuzemské odrůdy celoročně dostupné v obchodní síti - červená odrůda jablek Idared a zelená odrůda Golden Delicious. Ze skupinových antioxidantů byly sledovány celkové polyfenoly, celkové flavonoidy, vitamin C a také celková antioxidační aktivita. Metodou HPLC byly sledovány změny obsahu individuálních flavonoidů.

Odrůda Golden Delicious

Největší rozdíly v průběhu skladování byly zaznamenány u vitaminu C. Vitamin C s dobou skladování výrazně klesal. Největší pokles byl zaznamenán hned po prvním týdnu skladování, a to zejména při skladování jablek při pokojové teplotě a v lednici. Poté už pokles vitaminu C nebyl tak výrazný. Bylo zjištěno, že pro odrůdu Golden Delicious je z pohledu vitaminu C nejvhodnější skladování ve sklepě, kde obsah vitaminu C klesal výrazně pomaleji než v ostatních prostředích.

Hodnoty celkových polyfenolů a celkových flavonoidů se v různém prostředí uchovávání příliš neliší. Ke konci zaznamenáváme u obou parametrů mírný nárůst. Toto zvýšení je výraznější u flavonoidů. U jablek skladovaných ve sklepě je tento nárůst velmi pozvolný. Zvýšení hodnoty celkových polyfenolů a celkových flavonoidů ke konci skladování může přispívat k udržení celkové antioxidační aktivity, která se na konci uchovávání jablek nepatrně zvyšuje.

Změny obsahu celkových antioxidantů závisí na tom, v jakém prostředí jablka uchováváme. U odrůdy Golden Delicious je nejvhodnější prostředí skladování sklep. Jablka v tomto prostředí ztrácí nejméně vitaminu C.

Při uchovávání jablek ve sklepě nedocházelo k tak časnému měknutí plodů. Plody byly téměř až ke konci uchovávání pevné, povrch byl potažen tenkou vrstvou vosku. V ostatních prostředích docházelo k brzkému měknutí plodů a pokožka plodu byla vrásčitá. U jablek skladovaných při pokojové teplotě se již po pár týdnech skladování objevila hniloba plodů.

Odrůda Idared

U odrůdy Idared byly nejvýraznější změny zaznamenány u vitaminu C. U odrůdy Idared je pokles vitaminu C vyšší než u odrůdy Golden Delicious. Po prvním týdnu skladování byl tento pokles ve všech prostředích nejvýznamnější. Hodnota vitaminu C klesla o více než polovinu. V dalším průběhu skladování obsah vitaminu C klesal jen nepatrně. Největší pokles byl zaznamenán u jablek uchovávaných při pokojové teplotě. U jablek skladovaných ve sklepě a v lednici se obsah vitaminu C výrazně neodlišoval. Vyplývá z toho, že jablka odrůdy Idared není vhodné uchovávat při pokojové teplotě, protože s dobou skladování výrazně klesá obsah vitaminu C.

Hodnoty celkových polyfenolů a celkových flavonoidů jsou srovnatelné s odrůdou Golden Delicious. Ke konci skladování výrazněji stoupá obsah celkových flavonoidů u odrůdy Idared. Celkové polyfenoly a flavonoidy se v závislosti na prostředí skladování výrazně neliší. V průběhu uchovávání dochází ke kolísání obsahu celkových polyfenolů a celkových flavonoidů, na konci skladování dochází k mírnému nárůstu. U celkových flavonoidů dochází

k výraznějšímu nárůstu než u celkových polyfenolů. Nejvyšší nárůst celkových flavonoidů ke konci skladování byl zaznamenán v jablkách skladovaných v lednici.

Celková antioxidační aktivita klesá během skladování ve všech prostředích. Tento pokles je výraznější u odrůdy Golden Delicious. Ke konci skladování u odrůdy Idared dochází k mírnému nárůstu. Nejnižší hodnoty antioxidační aktivity jsou zaznamenány u jablek uchovávaných v lednici. Nejvyšší hodnoty celkové antioxidační aktivity byly zjištěny u jablek skladovaných při pokojové teplotě. To může souviset s obsahem vitamínu C, který je v prostředí při pokojové teplotě nejnižší. Antioxidační aktivita může vyrovnávat tyto rozdíly.

U jablek odrůdy Idared nedocházelo tak časně k měknutí plodů jako u odrůdy Golden Delicious. Nejvíce byly poškozeny plody uchovávané při pokojové teplotě. Plody skladované v lednici také po téměř krátké době měkly a povrch začínal být vrásčitý. Nejdéle odolné proti stárnutí byly plody skladované ve sklepě. Pravděpodobně zde byla optimální teplota a vlhkost. I ke konci skladování povrch jablka odpovídal čerstvému plodu. Jen místy bylo jablko poškozeno. U jablek uchovávaných ve sklepě nedocházelo ke hnití na rozdíl od jablek skladovaných při pokojové teplotě.

Hrušky

U hrušek byly srovnávány stejné látky jako u jablek. Pouze celkové flavonoidy nebyly zahrnuty do zkoumaných látek. Skladování probíhalo pouze týden, poté byly hrušky ve značně špatném stavu, že další odebrání vzorků již nebylo možné.

Vitamin C u hrušek po prvním týdnu skladování vzrostl v obou prostředích. Větší přírůstek byl zaznamenán u hrušek uchovávaných ve sklepě. Nepatrně došlo v průběhu skladování i k zvýšení celkové antioxidační aktivity a celkových polyfenolů.

S hruškami se muselo pracovat daleko rychleji než s jablky, u plodů docházelo při manipulaci se vzorky k podstatně rychlejší oxidaci než u jablek.

6 ZÁVĚRY

- V předložené bakalářské práci byly sledovány dvě odrůdy jablek a jedna odrůda hrušek. U jablek se jednalo o jednu červenou odrůdu (Idared) a jednu zelenou (Golden Delicious). Tyto jablka patří k nejběžnějším zdrojům antioxidantů u nás a jsou celoročně dostupná. Jablka byla skladována ve třech různých prostředích – v laboratoři při pokojové teplotě, ve sklepě a v lednici 8 týdnů. Hrušky byly skladovány pouze jeden týden, poté byly znehodnoceny natolik, že nebylo možné je dál sledovat. U jablek i hrušek byla po celou dobu skladování sledována i povrchová mikroflóra.
- Obsah vitamínu C výrazně klesá s dobou skladování. U obou odrůd jablek byl největší pokles zaznamenán při skladování v laboratoři při pokojové teplotě. Nejvíce vitamínu C obsahují jablka skladovaná ve sklepě.
- Celkové polyfenoly a celkové flavonoidy se prakticky neliší v závislosti na odrůdě ani na skladovaném prostředí. Ke konci skladování obsah celkových polyfenolů a celkových flavonoidů nepatrně vzrůstá. U celkových flavonoidů je tento vzestup výraznější.
- Hodnoty celkových polyfenolů a celkových flavonoidů závisí i na samotném plodu. Každé jablko je individuální a výsledky vykazují poměrně značné interindividuální rozdíly, ačkoli jablka jsou stejné odrůdy a byla odebírána ve stejný časový okamžik. Zde může hrát velkou roli vyzrállost plodu v době sklizně, podmínky předchozího uskladnění a manipulace s plody, případně poškození povrchové vrstvy, výskyt měkkých částí apod.
- Celkové flavonoidy na konci uchovávání významně rostou, což může přispívat k udržení celkové antioxidační aktivity. Vzrůstající hodnoty celkových flavonoidů mohou souviset i s poklesem vitamínu C. V jablkách skladovaných ve sklepě není tak výrazný pokles vitamínu C jako v jiných prostředích a zároveň celková antioxidační aktivita a celkové flavonoidy nevzrůstají tolik jako u jablek skladovaných v lednici a při pokojové teplotě. Je možné, že antioxidanty v plodech jablek působí v rámci komplexu, jehož složky se vzájemně ovlivňují, regenerují a působí synergisticky.
- Obsah katechinů s dobou skladování u obou odrůd kolísá, ke konci se mírně zvyšuje. Naopak kyselina chlorogenová ve všech případech prudce klesá a až na konci dochází k vzrůstu. Galláty v průběhu skladování rostou, ke konci uchovávání se jejich obsah snižuje. Výkyvy hodnot podporují předpoklad o komplexním působení antioxidantů v plodech.
- U hrušek dochází po prvním týdnu skladování ke zvyšování obsahu všech sledovaných antioxidantů. Vždy jsou vyšší obsahy zaznamenány při uchovávání ve sklepě. Pouze u katechinů a gallátů obsah v průběhu skladování klesá.
- Nejvíce počtu mikroorganismů na povrchu jablek a hrušek lze najít při skladování v laboratoři při pokojové teplotě a v lednici. V lednici může docházet k sekundární kontaminaci přítomnými mikroorganismy, případně je zde nevhodná teplota či vlhkost. Slupka jablek ztrácí svou pružnost a jablka jsou náchylnější k infekci mikroorganismů. V laboratoři je zase naopak příliš vysoká teplota. Plod musí více dýchat a dochází k častější infekci.
- Předložená práce byla zaměřena na modelový zrychlený experiment změn antioxidantů v plodech jablek dlouhodobě skladovaných v různých podmínkách. Ze

získaných výsledků vyplývá, že nejvhodnější prostředí pro uchovávání jablek je sklep. Je zde prakticky ideální teplota i vlhkost. Jablka mají atraktivní vzhled i několik měsíců a i organoleptické vlastnosti jsou podobné jako krátce po sklizni.

7 POUŽITÉ ZDROJE

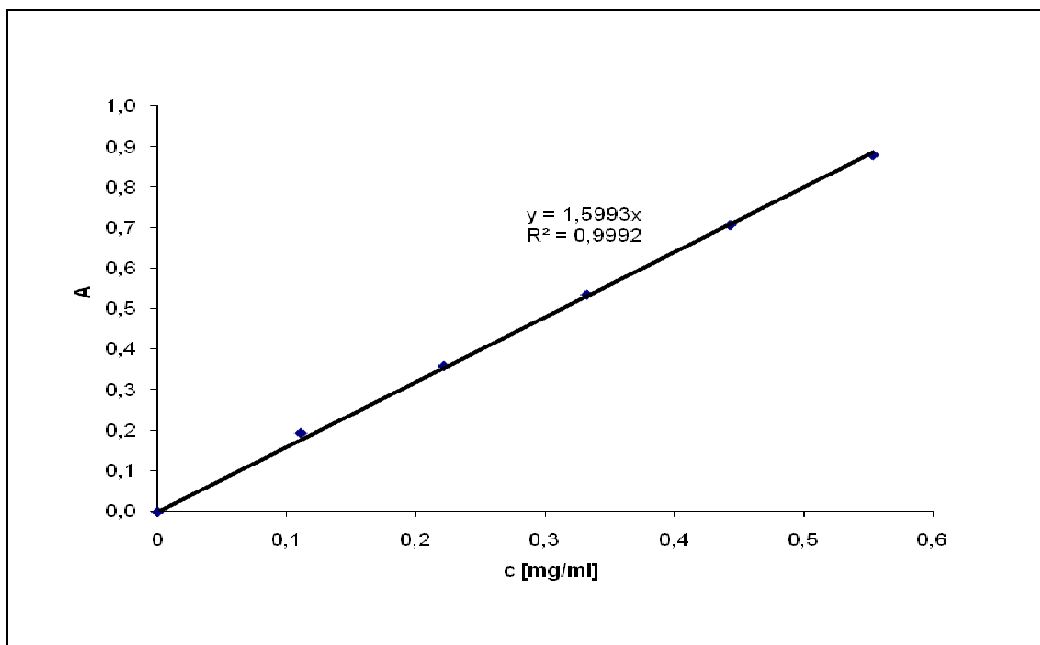
- [1] FANG, Yun-Zhong, YANG, Sheng, WU, Guoyao. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition : Oxidative Stress and Antioxidant Systems* [online]. 2002, vol. 18, no. 10 [cit. 2009-04-15], s. 872-878.
- [2] PLÁTENÍK, Jan. Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2009 [cit. 2009-04-15], s. 30-33.
- [3] VELÍŠEK, Jan. *Chemie Potravin 3*. 2. upr. vyd. Tábor : OSSIS, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-02-X.
- [4] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. 2. vyd. Tábor : OSSIS, 2002. 320 s. ISBN 80-86659-01-1.
- [5] [Http://www.wikipedia.org/](http://www.wikipedia.org/) [online]. 2009 [cit. 2009-05-21]. Dostupný z WWW: <<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/09/Ascorbic-acid-2D-skeletal.png>>.
- [6] DVOŘÁKOVÁ, J. *Vliv podmínek uchovávání na obsah biologicky aktivních složek v plodech jablek*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2007. XXs. Vedoucí bakalářské práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.
- [7] POUPARD, Pascal, et al. Characterisation by liquid chromatography coupled to electrospray. *Journal of Chromatography A* [online]. 2008 [cit. 2009-04-09], s. 168-181.
- [8] RENARD, Catherine M.G.C., DUPONT, Nathalie, GUILLERMIN, Pascale. Concentrations and characteristics of procyanidins and other. *Phytochemistry* [online]. 2007 [cit. 2009-04-09], s. 1128-1138.
- [9] D'ABROSCA, Brigita, et al. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar. *Food Chemistry* [online]. 2007 [cit. 2009-04-09], s. 1333-1337.
- [10] [Www.uniplant.cz](http://www.uniplant.cz) [online]. 2009 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.uniplant.cz/jablon-golden-delicious.htm>>.
- [11] [Www.webpark.cz](http://www.webpark.cz) [online]. 2009 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://apple.webpark.cz/Jablka.htm>>.
- [12] [Www.zert.cz](http://www.zert.cz) [online]. 2009 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.zert.cz/obchod/odrudyjablek.htm>>.
- [13] [Www.ovocnarska-unie.cz](http://www.ovocnarska-unie.cz) [online]. 2005 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/golden_d.htm>.
- [14] [Www.garten.cz](http://www.garten.cz) [online]. 2001-2008 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.garten.cz/a/cz/3779-malus-domestica-golden-delicious-jablon/>>.
- [15] [Www.sempra.cz](http://www.sempra.cz) [online]. 2009 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.sempra.cz/odrudy/ovoce/popisy/jablone.htm>>.
- [16] [Www.ovocnarska-unie.cz](http://www.ovocnarska-unie.cz) [online]. 2005 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/idared.htm>>.
- [17] [Www.uniplant.cz](http://www.uniplant.cz) [online]. 2009 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.uniplant.cz/jablon-idared.htm>>.
- [18] [Www.jablka-jahody.jex.cz](http://www.jablka-jahody.jex.cz) [online]. 2009 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.jablka-jahody.jex.cz/thema/popis-odrudy-jablek/>>.
- [19] [Www.zemcheba.cz](http://www.zemcheba.cz) [online]. 2002 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.zemcheba.cz/atlas/idared.html>>.

- [20] *Www.garten.cz* [online]. 2001-2008 [cit. 2009-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.garten.cz/a/cz/3816-malus-domestica-idared-jablon/>>.
- [21] GOLIÁŠ, Jan. *Skladování a zpracování I : Základy chladírenství*. 2. vyd. Brno : MZLU Brno, 1996. 158 s. ISBN 80-7157-229-2.
- [22] SOMMER, Lumír, et al. *Základy analytické chemie II*. 1. vyd. Brno : Vutium, 2000. 347 s.
- [23] HRSTKA, Miroslav, VESPALCOVÁ, Milena. *Praktikum z analytické chemie potravin*. [s.l.] : [s.n.], 2006. 58 s.
- [24] ZLOCH, Z, ČELAKOVSKÝ, J, AUJEZDSKÁ, A. Stanovení obsahu polyfenolů a celkové antioxidační kapacity v potravinách rostlinného původu. *Závěrečná zpráva o plnění výzkumného projektu podpořeného finančně Nadačním fondem Institutu* [online]. 2004 [cit. 2009-04-25].
- [25] Márová I., Vránová D.: *Praktikum z biochemie*, Ústav chemie potravin a biotechnologie, Brno, 2002.
- [26] Barošová, M. *Sledování antioxidantů v sušeném ovoci*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. XXs. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.

8 PŘÍLOHY

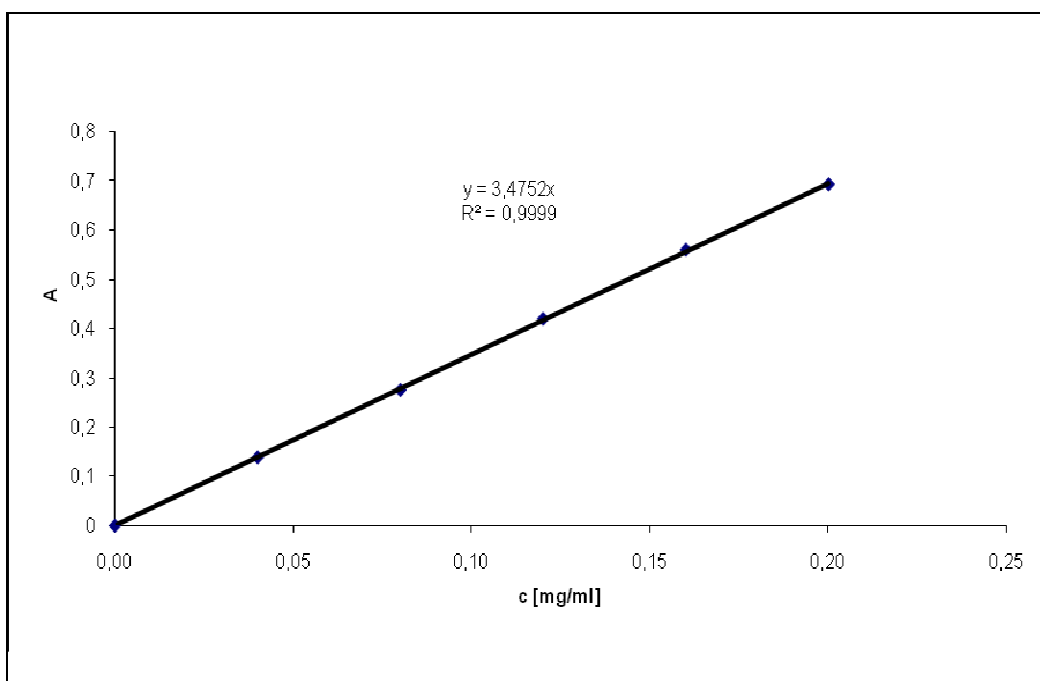
8.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Graf 39 Kalibrační křivka kyseliny gallové



8.2 Kalibrační křivka katechinu

Graf 40 Kalibrační křivka katechinu

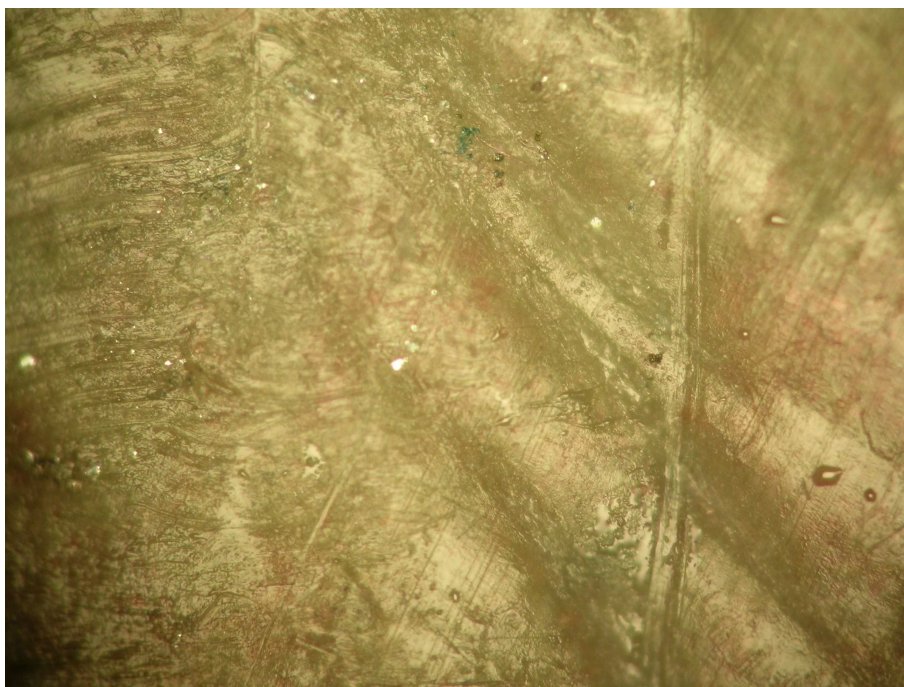


8.3 Povrchová mikroskopie – Golden Delicious



Obr. 2 Povrchová mikroskopie u odrůdy Golden Delicious

8.4 Povrchová mikroskopie – Idared



Obr. 3 Povrchová mikroskopie u odrůdy Idared