



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

MOŽNOSTI PŘÍPRAVY KOMBINOVANÝCH NÁPOJŮ Z VYBRANÝCH DRUHŮ OVOCE

POSSIBILITIES OF PREPARATION COMBINED DRINKS FROM SELECTED
FRUITS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Miroslava Zábranská

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

BRNO 2016

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá přípravou kombinovaného ovocného nápoje na bázi vína a ovocných šťáv.

Z vybraných druhů méně známého drobného ovoce (zimolezu, moruše, dřínu, šípku, černého bezu, rakytníku a aronie) byly získány ovocné šťávy. Pro základní charakterizaci uvedených šťáv byly stanoveny některé jejich chemické vlastnosti (celkové fenoly, anthokyany, vitamín C a sacharidy). Stejně chemické parametry byly stanoveny i u bílého vína, které bylo základem nápoje.

Z použitých ovocných šťáv byly připraveny 3 sady kombinovaných nápojů. Na základě jejich senzorického hodnocení byly vybrány dva nejlépe hodnocené nápoje. U těchto výsledných nápojů byly na závěr stanoveny stejné chemické vlastnosti jako u jednotlivých šťáv.

KLÍČOVÁ SLOVA

aronie, fenolické látky, sacharidy, anthokyany, vitamín C, UV-VIS spektrofotometrie, HPLC

ABSTRACT

This thesis deals with the preparation of the combined fruit beverages based on wine and fruit juice.

The fruit juices were obtained from the selected fruits as honeysuckle, mulberry, dogwood, rose hips, elderberry, buckthorn and aronia. Some chemical properties e.g. total phenolics, total anthocyanins, vitamin C and saccharides were determined for characterization of the mentioned juices. As well as chemical parameter of juices, the same chemical parameters were determined on used white wine which formed the basis of beverages.

There were prepared three sets of combined beverages from used fruit juices. The two best evaluated beverages were chosen on the basis of their sensory evaluation. In the end, the same chemical properties were determined in both particular juices and resulting beverages.

KEYWORDS

chokeberry, total phenolics, saccharides, total anthocyanins, vitamin C, UV-VIS spectrophotometry, HPLC

ZÁBRANSKÁ, M. *Možnosti přípravy kombinovaných nápojů z vybraných druhů ovoce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 85 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

podpis studenta

Poděkování:

Ráda bych poděkovala paní RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D. za vedení mé diplomové práce a za pomoc a rady pro její dokončení. Mé poděkování patří i paní Ing. Zuzaně Jurečkové za poskytnutí pomoci a obětavosti při práci v laboratoři.

Obsah

ABSTRAKT	3
ABSTRACT	4
KLÍČOVÁ SLOVA.....	3
KEYWORDS	4
PROHLÁŠENÍ.....	5
1 ÚVOD	10
2 TEORETICKÁ ČÁST.....	11
2.1 Popis vybraných druhů ovocí	11
2.1.1 Zimolez kamčatský (<i>Lonicera kamtschatica</i>)	11
2.1.2 Morušovník černý (<i>Morus nigra</i>).....	13
2.1.3 Dřín obecný (<i>Cornus mas</i>)	15
2.1.4 Rakytník řešetlákovitý (<i>Hippophae rhamnoides</i>)	17
2.1.5 Bez černý (<i>Sambucus nigra</i>)	19
2.1.6 Růže šípková (<i>Rosa canina</i>).....	21
2.1.7 Aronie (<i>Aronia melanocarpa</i>).....	23
2.2 KONZERVACE POTRAVIN	25
2.2.1 Vliv záhřevu na mikroorganismy	25
2.3 SENZORICKÁ ANALÝZA.....	27
2.3.1 Definice senzorické analýzy.....	27
2.3.2 Podmínky senzorické analýzy	27
2.3.3 Úloha hodnotitele při senzorické analýze	27
2.3.4 Vlastnosti potravin sledované senzorickou analýzou.....	27
2.3.5 Intensitní a hedonické hodnocení	27
2.3.6 Hodnocení komplexní a detailů.....	27
2.3.7 Doba a délka hodnocení	28
2.3.8 Vlastní senzorické hodnocení.....	28
2.4 FENOLICKÉ LÁTKY	30
2.4.1 Dělení polyfenolických látek	30
2.4.1.1 Fenolické kyseliny	30
2.4.1.2 Stilbeny.....	32
2.4.1.3 Lignany	32
2.4.1.4 Flavonoidy	33
2.4.1.5 Flavonoly	33

2.4.1.6	Flavanoly	34
2.4.1.7	Flavanony	35
2.4.1.8	Flavony	35
2.4.1.9	Isoflavony	36
2.4.2	Faktory ovlivňující obsah fenolických látek	36
2.4.3	Metody stanovení fenolických látek	37
2.4.3.1	Spektrofotometrické stanovení celkových fenolů podle Folin Ciocalteua	37
2.4.4	Fotometrické metody	37
2.4.4.1	Spektrofotometrie ve viditelné a ultrafialové oblasti (190 až 800 nm)	38
2.4.4.2	Spektrofotometrické veličiny	38
2.4.4.3	Absorpční spektra molekul	39
2.4.4.4	Absorpční křivka	40
2.4.4.5	Barevnost látek	40
2.4.4.6	Využití UV – VIS spektrofotometrie	41
2.5	ANTHOKYANY	42
2.5.1	Chemická struktura	42
2.5.2	Výskyt	43
2.5.3	Vlastnosti anthokyanů	43
2.5.3.1	Vliv teploty	43
2.5.3.2	Vliv struktury	43
2.5.3.3	Vliv pH prostředí	44
2.5.3.4	Další vlivy	44
2.5.4	Anthokyaniny a jejich funkce v živém organismu	44
2.5.5	Metody stanovení anthokyanů	45
2.5.5.1	pH diferenciální metoda	45
2.6	VITAMÍN C	46
2.6.1	Chemická struktura	46
2.6.2	Vlastnosti vitamínu C [49]	46
2.6.3	Stanovení vitamínu C	46
2.6.4	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	47
2.6.5	Instrumentace	47
2.6.5.1	Čerpadlo	47
2.6.5.2	Dávkování vzorku	48

2.6.5.3	Kolony	48
2.6.5.4	Detektory	49
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	50
3.1	Chemikálie.....	50
3.2	Pomůcky	50
3.3	Přístroje.....	50
3.4	Analyzované vzorky	51
3.5	Stanovení celkových fenolických látek pomocí Folin-Ciocaltaunova činidla	52
3.5.1	Příprava roztoků	52
3.5.2	Příprava kalibrační křivky	52
3.5.3	Příprava vzorku	52
3.5.4	Pracovní postup	52
3.6	Stanovení celkových anthokyanů	53
3.6.1	Příprava roztoků	53
3.6.2	Pracovní postup pro stanovení celkových anthokyanů	53
3.7	Stanovení vitamínu C	54
3.7.1	Příprava roztoků	54
3.7.2	Pracovní postup stanovení vitamínu C.....	55
3.8	Stanovení sacharidů	55
3.8.1	Příprava roztoků pro kalibrační závislost.....	55
3.8.2	Příprava vzorků	55
3.8.3	Pracovní postup pro stanovení sacharidů	56
3.9	Statistické zpracování	56
3.10	Pracovní postupy pro míchání kombinovaných nápojů	57
3.11	Senzorická analýza nápojů	59
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	60
4.1	Stanovení vybraných chemických vlastností použitých ovocných šťáv	60
4.1.1	Stanovení celkových fenolických látek.....	60
4.1.2	Stanovení celkových anthokyanů.....	61
4.1.3	Stanovení vitamínu C	62
4.1.4	Stanovení sacharidů.....	64
4.2	Kombinované nápoje	67
4.2.1	Senzorické vyhodnocení kombinovaných nápojů.....	68

4.2.1.1	Hodnocení chuti.....	68
4.2.1.2	Hodnocení vzhledu a vůně	69
4.2.1.3	Hodnocení pocitu svěžesti v ústech.....	70
4.2.1.4	Srovnání vůně, celkové chuti a barvy u KN 1 a KN 2	71
4.2.1.5	Hodnocení předložených nápojů	73
4.2.2	Chemické vlastnosti dvou favorizovaných kombinovaných nápojů.....	73
5	ZÁVĚR.....	74
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	76
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	81
8	SEZNAM PŘÍLOH	82
	Příloha 1: Hodnocení kombinovaných nápojů	82
9	PŘÍLOHY.....	83
	Příloha 1: Hodnocení kombinovaných nápojů	83

1 ÚVOD

Pitný režim je důležitou součástí zdravého životního stylu. Člověk by měl vypít denně nejméně 2 litry vody, případně jiné vhodné tekutiny. Požadavky na kvalitní nápoje rozhodně nesplňují různé limonády, které jsou oblíbené zejména u mládeže a dostupné ve všech obchodních řetězcích. Základem limonád je voda, značné množství cukru, přídavek kyseliny citronové a ochucovací složka. Zdravotní benefit takového nápoje je zanedbatelný.

Kvalitní nápoj by měl kromě zavodnění organismu také přispívat k podpoře zdraví. Neměl by obsahovat přidané sacharidy, měl by přinášet osvěžení a měl by obsahovat biologicky aktivní látky, které lidský organismus může využít ke své regeneraci či ochraně před nemocemi. Tyto aktivní složky se nachází v hojné míře např. v ovoci.

Tato diplomová práce si klade za cíl využít k přípravě nápojů ovoce méně známé, které není u nás na trhu běžně k dostání, může být v našich klimatických podmínkách běžně pěstováno, a které obsahuje značné množství zdraví podporujících látek (jako jsou např. antioxidanty, vitamin C apod.). Šťávy ze šesti druhů drobného ovoce (aronie, dřín, moruše, rakytníky, bezinky, šípky a zimolezy) byly použity spolu s hroznovou šťávou a vínem k přípravě kombinovaného ovocného nápoje.

Zimolez kamčatský v našich klimatických podmínkách dozrává již v druhé polovině května. Šťáva se může použít jako přírodní barvivo do potravinářských výrobků.

Morušovník černý je náročný na teplo a dostatek slunce, nedaří se mu ve stínu a mokřích půdách. Má vysoký obsah fenolických a anthokyanových látek.

Dřín obecný je náš domácí druh. Má vysokou nutriční hodnotu, vysoký obsah vitamínu C, sacharidů, organických kyselin, pektinů a minerálních látek.

Rakytník řešetlákovitý se u nás pěstuje zatím jen ojediněle a má vynikající nutriční hodnotu.

Bez černý se uplatňuje v lidovém léčitelství a v lidové kuchyni byl využíván mnoha způsoby. Koncentrát z jeho šťávy se používá jako červené potravinářské barvivo přírodního původu.

Růže šípková obsahuje velké množství vitamínu C. Olej ze šípku ovlivňuje hojení jizev a vyhlazování vrásek.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Popis vybraných druhů ovoce

V mírném pásmu střední Evropy je možno pěstovat nejrůznější druhy drobného ovoce. Některé jsou místní, jiné byly do Evropy úspěšně importovány a zdomácněly zde. Významnými zástupci uvedeného drobného ovoce jsou např. níže uvedené aronie, dřín, moruše, rakytník, bezinka, šípky a zimolezy. Jsou cenné pro vysoký obsah nejrůznějších biologicky aktivních látek, které mohou být využity při podpoře lidského zdraví. Také proto byla a je těmto původně planým druhům věnována pozornost ze strany ovocnářů a šlechtitelů.

2.1.1 Zimolez kamčatský (*Lonicera kamtschatica*)

Rod zimolez patří do čeledi *Caprifoliaceae*. Podle názvu, pochází tento ovocný druh z Kamčatky. Vyskytuje se i v Magadanské oblasti v Rusku a na Kurilských ostrovech. Nejvíce plodí na přírůstcích loňského roku, na jednoletém dřevě vyrůstajícím z dvouletého. Zimolez kamčatský začíná plodit až ve třetím roce po výsadbě. Odrůdy jsou náchylné k opadu dozrávajících plodů, doporučuje se je sklízet každý třetí den. V našich klimatických podmínkách dozrávají již v druhé polovině května.[1]

Tabulka 1: Taxonomické zařazení zimolezu [2]

Doména	<i>Eukaryota</i>	jaderné
Nadříše	<i>Bikonta</i>	dvoubičíkaté
Říše	<i>Plantae</i>	rostliny
Podříše	<i>Tracheobionta</i>	cévnaté
Nadoddělení	<i>Spermatophyta</i>	semenné
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>	krytosemenné
Třída	<i>Rosopsida</i>	vyšší dvouděložné
Podtřída	<i>Asteridae</i>	asteridy
Řád	<i>Dipsacales</i>	štětíkotvané
Čeleď	<i>Caprifoliaceae</i>	zimolezovité

Zimolez kamčatský je mělce kořenící, středního vzrůstu, vysoký 1-1,5 m. Má sytě zelené listy, kopinaté s pilovitým okrajem. Listy se na podzim zbarvují antokyany vínově červeně. Květy jsou trubkovité, trychtýřkovité nebo zvonkovité a oboupohlavní, dlouhé 10–12 mm, plátky mají bělavě, světle žlutě či červeně zbarvené. Vyrůstají po dvou.[1]



Obrázek 1: Květy zimolezu [3]

Plod je tmavě modrá bobule, cylindrického tvaru o hmotnosti 0,65–1,40 g. Je 15–20 mm dlouhý, mírně aromatický, sladkokyselé chuti. Dužina obsahuje 8–15 světle hnědých semen.[1]



Obrázek 2: Plody zimolezu [4]

Plody zimolezu obsahují v závislosti na pěstitelských podmínkách 10–14,6 % sušiny a z toho 14,8 % připadá na rozpustnou sušinu. Složkami bobulí jsou sacharidy 7,2 %, největší zastoupení má fruktóza (2,9 %) a glukóza (3,2 %). Dále obsahují 1,5 % lipidů, 1,1–1,6 % pektinu, 1,6 % proteinů. V proteinech zimolezu je nejvíce zastoupen arginin, kyselin glutamová, asparagová, leucin, glycin a fenylalanin. Obsah polyfenolů činí 400–1500 mg ve 100 g plodů, anthokyanů 1,4 mg také ve 100 g. Obsahují 20–50 mg % vitamínu C, vitaminy skupiny B 640–900 mg %, a minerální látky jako jsou hořčík, vápník, draslík a fosfor. Obsah biologicky aktivních látek flavonolů a flavonů je 70–140 mg.100 g⁻¹. [1]

Využití zimolezu:

Ze zimolezu se vyrábějí kompoty, zavařeniny, želé, marmelády, připravují se z něho také šťávy, vína, likéry a další alkoholické nápoje. Slouží pro cukrářský a konzervářský průmysl. Šťáva zimolezu se dá použít jako příbarvovací prostředek do jiných výrobků. Plody zimolezu jsou vhodné rovněž na přímý konzum, vynikající jsou i mražené. [1]

2.1.2 Morušovník černý (*Morus nigra*)

Morušovník černý pochází z Íránu a Afghánistánu. V Itálii a v Řecku se pěstují ve větším množství, u nás se pěstují v menší míře na jižní Moravě. Existuje také morušovník bílý a červený. Jednotlivé morušovníky se vzájemně liší kromě barvy plodů také ve tvaru listů a květů. [2]



Obrázek 3: Plody morušovníku [5]

Morušovník je náročný na teplo a dostatek slunce, nedaří se mu v stinných zahradách a v těžkých mokřých půdách. Vyhovuje mu hluboká písčitohlinitá nebo hlinitopísčitá půda, zásobená živinami a vláhou. Nejčastěji se množí očkováním. Morušovník je bezproblémový strom, květy jsou samosprašné a sklizeň je jednoduchá. Nevýhodou je mohutnost stromu. Moruše bílé se obvykle nepěstují, plody jsou chuťově nevýrazné.[1]

Tabulka 2: Taxonomické zařazení moruše [6]

Říše	<i>Plantae</i>	rostliny
Podříše	<i>Tracheobiota</i>	cévnaté
Nadoddělení	<i>Spermatophyta</i>	semenné
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>	krytosemenné
Třída	<i>Magnoliopsida</i>	nižší dvouděložné
Podtřída	<i>Hamamelididae</i>	jehnědokvěté
Řád	<i>Urticales</i>	kopřivokvěté
Čeleď	<i>Moraceae</i>	morušovité
Rod	<i>Morus L.</i>	morušovník

Strom vyrůstá do výšky 12–15 m. Morušovník má listy velké, široce vejčité, nedělené, střídavé, nesouměrně laločnaté. Listy jsou na líci tmavě zelené, drsné, matné, chlupaté, okraj čepele je hrubě pilovitý. Květy jsou jednodomé, samičí květy dozrávají v tmavofialové až černé plodenství, jsou velké 2–2,5 cm s krátkou stopkou. Dozrávají v červenci až září.[1]

Plody moruší obsahují sacharidy v množství 7,9–12,2 %, hlavními cukry jsou glukóza a fruktóza. Moruše černé mají vyšší obsah fenolických látek, antioxidační kapacity, titrovatelných kyselin a celkových monomerních anthokyanů než obsahují moruše červené. [7]

Dále jsou moruše zdrojem minerálních látek dusíku, fosforu, vápníku, sodíku, železa, mědi, manganu a zinku. Převládajícím prvkem je draslík. Obsah rozpustné sušiny se pohybuje v rozmezí mezi 15,9–20,4 %. pH se pohybuje v rozmezí 3,52–5,60. Moruše obsahují také tuky až 1 %. Z vitamínů jsou zastoupeny vitamín C a vitamíny skupiny B.[8]

Využití morušovníku černého:

Moruše se konzumují čerstvé. Ale dají se také zpracovávat mnoha způsoby. Připravují se z nich džemy, želé, sirupy, likéry aromatické ovocné víno.[9] Pro výrobu tohoto vína se u nás používá odrůda Moruše trnavská. Ta vznikla na Slovensku křížením moruše černé a moruše červené. Pěstuje se zejména ve vinohradnických oblastech jižní Moravy.[1]

2.1.3 Dřín obecný (*Cornus mas*)

Dřín obecný pochází z jižní Evropy a podhůří Kavkazu. Příbuznými druhy jsou dřín bílý (*C. alba*), květnatý (*C. florida*) a krvavý (*C. sanguinea*).[10] Dřín obecný je náš domácí druh.[11] Rozkvétá ještě před olistěním. Daří se mu na výslunných, sušších rovinách a svažitých stanovištích, potřebuje půdy neutrální až alkalické,[10] je mrazuvzdorný.[12] Dřín netrpí chorobami ani škůdci, roste do nadmořské výšky až 600 m.[10]



Obrázek 4: Plody dřínu [13]

Dřín se používá k výsadbě živých plotů, podél cest i na svazích.[11] Nízkokmenné stromky, případně keře dorůstají do výšky 3 až 3,5 m. Listy jsou sytě zelené barvy s podélnou žilnatinou, elipsovitého tvaru.[10] Dlouhé stopkaté žluté květy jsou uspořádány do květenství. Plodem je menší peckovice o průměrné hmotnosti 2,6 g. Nazývá se dříněk a je 24 mm vysoká a 12 mm široká. Plody se sklízí v době, když jsou vybarvené, jasně červené nebo karmínově červené a tvrdé. Sklízí se setřásáním na plachtu.

Tabulka 3: Taxonomické zařazení dřínu [14]

Říše	<i>Plantae</i>	rostliny
Podříše	<i>Virideaplantae</i>	zelené rostliny
Kmen	<i>Magnoliophyta</i>	krytosemenné
Podkmen	<i>Spermatophyta</i>	semenné
Třída	<i>Magnoliopsida</i>	nižší dvouděložné
Řád	<i>Cornales</i>	dřínokvěté
Čeleď	<i>Cornaceae</i>	dřínovité
Rod	<i>Cornus</i>	dřín

Dřín obecný má vyrovnané chemické složení vzhledem k poměru sušiny a celkových kyselin, které ovlivňují chuť ovoce.[15]

Dřín přináší ovoce s vysokou nutriční hodnotou.[10] Má vysoký obsah vitamínu C, sacharidů, organických kyselin, pektinů a minerálních látek. Obsah volných kyselin je 2,85 %. Celkové množství cukru je 8–9 %, z toho 4 % představuje glukóza a 4,4–4,72 % fruktóza. Dřínky jsou bohaté na anthokyany a třísloviny, mají vysokou antioxidační aktivitu v důsledku velkého množství fenolických sloučenin. Obsahují i vysoké procento pektinů ovlivňujících želírující schopnosti. Z minerálních látek je zastoupen draslík, hořčík, vápník, sodík, fosfor, železo a mangan. Obsah zinku je v rozmezí 2,85–3,24 mg.kg⁻¹ u jednotlivých odrůd. Větve, listy a kůra mají vysoký obsah tříslovin.[15]

Využití dřínu obecného:

Dřín se využívá v tradiční medicíně při průjmech a zažívacích potížích. Používá se ke zlepšení funkce jater a ledvin. Dále vykazuje antibakteriální, protialergické, antimikrobiální a antimalarické účinky. V Evropě se pěstuje pro potravinářské a kosmetické účely. V kosmetice nahrazuje syntetické adstringentní látky, které mají příznivé účinky na pokožku.[15]

Dřínky se mohou konzumovat čerstvé, sušené nebo nakládané do soli. Dají se zpracovat na marmeládu, džem, kompot a sirup. Mnohde se z nich připravuje pálenka. V asijských zemích jsou dřínky hlavní složkou bylinných antidiabetik.[15]

2.1.4 Rakytník řešetlákový (*Hippophae rhamnoides*)

Rakytník pochází ze Sibíře. Je nenáročný na půdu a na klimatické podmínky a netrpí chorobami ani škůdci.[10] V posledních letech se jeho pěstování v ČR rychle rozšiřuje zejména kvůli vysoké nutriční hodnotě jeho plodů. Využívá se také jako krajinný prvek.



Obrázek 5: Plody rakytníku [16]

Odrůdy rakytníku jsou dvoudomé. Vytváří keře, které dorůstají do výšky 2–3 m. Plodící keře jsou vzpřímenější a vyšší než keře opylovače. Keře vytvářejí mnoho kořenových výběžků, které se musí odstraňovat pravidelným průklestem. Samičí rostliny mají květy malé, světle žluté a na keři jsou nenápadné, protože vykvétají v úžlabí listů. Listy jsou sytě zelené. Květy opylovače jsou větší, hnědé barvy. Rakytník se nejčastěji množí vegetativně. Má malé oranžové plody, které dozrávají od poloviny září do konce října.[10]

Rakytník obsahuje až 60 biologických aktivních látek, které jsou předmětem intenzivního výzkumu. Mají povzbuzující účinky na lidský organismus, chrání i před následky radioaktivního záření.[17] Olej z rakytníku podporuje hojení ran, přidává se do kosmetických výrobků.[18]

Tabulka 4: Taxonomické zařazení rakytníku [19]

Říše	<i>Plantae</i>	rostliny
Podříše	<i>Virideaplantae</i>	zelené rostliny
Kmen	<i>Tracheophyta</i>	cévnaté
Podkmen	<i>Spermatophyta</i>	semenné
Třída	<i>Magnoliopsida</i>	dvouděložné
Řád	<i>Rhamnoides</i>	řešetlákový
Čeleď	<i>Eleagnaceae</i>	hlošínovité
Rod	<i>Hippophae L.</i>	rakytníkovité

Plody obsahují od 28 do 310 mg.100 g⁻¹ vitamínu C, vitamínu skupiny B, 2,5 % sacharidů (glukózy, fruktózy a sacharózy), organické kyseliny, trísloviny[10], anthokyany, nasycené a nenasycené mastné kyseliny a jiné účinné látky.[20]

Využití rakytníku:

Rakytník je odedávna součástí tradiční medicíny k léčbě kožních onemocnění, žaludečních vředů, astma a plicních onemocnění. Současné vědecké analýzy prokázaly antioxidační, imunomodulační, cytoprotektivní, hepatoprotektivní účinky a pozitivní vliv na regeneraci tkání. Jako podpůrný prostředek slouží pro léčbu radiačního poškození, popálenin, zánětu dutiny ústní a jícnového a žaludečního vředu.[20]

Plody se mohou jíst syrové, ze semen a dužiny se získává olej, používaný v kožním nebo v očním lékařství k regeneraci tkání.[9] Z plodů se dají připravit želé, kompoty, sirupy a marmelády.[21] Šťáva z čerstvých plodů odstraňuje únavu[12], může zrychlit metabolismus tuků a cukrů. Rovněž snižuje oxidační stres a působí proti vlivu genotoxických a cytotoxických chemikálií, těžkých kovů. Potlačuje také růst nádorových buněk. Proto roste zájem o využití bobulí v léčivech a kosmetických prostředcích.[15]

V dnešní době se z rakytníkových plodů připravují šťávy, marmelády, želé a bonbony. Rakytníkový olej je na trh uváděn jako složka potravin či doplněk stravy. Želatinové tobolky

s obsahem oleje se používají na udržení zdraví kůže, sliznic, imunitního a kardiovaskulárního systému. Rakytníkový olej působí baktericidně například na bakterie tyfu a zlatého stafylokoka. Průmyslově se využívají biologicky aktivní látky obsažené v bobulích a v různých částech rakytníku.[15]

Rakytníkové keře se také využívají pro zalesnění polopouštních oblastí nebo pro zpevnění svažitých pozemků v Číně, Mongolsku i ve státech západní a severní Evropy. V ČR se vysazovaly na svazích kolem dálnic. Rakytník také může být použit pro výsadbu živého oplocení. Dřevo rakytníku má vysokou výhřevnost a uplatňuje se také jako palivo.[15]

2.1.5 Bez černý (*Sambucus nigra*)

Černý bez je rychle rostoucí keř nebo strom rozšířený v celé Evropě a Malé Asii až do západní Sibiře. Roste v lužních lesích, na mezích, okrajích smíšených lesů, pasekách a v blízkosti obydlí. Nepotřebuje zvláštní nároky na půdu, nejlépe plodí na půdách s dobrou vláhou, dostatečným obsahem živin, především dusíku a humusu. Už ve starověku byl ceněn za dobré léčivé účinky, v lidovém léčitelství se uplatňuje dodnes.[10]



Obrázek 6: Plody černého bezu [22]

Šlechtěné odrůdy bezu černého se pěstují jako keř nebo čtvrtkmen s korunkou. Kmenový tvar s menší kulovitou korunou dorůstá do výšky 5–6 m, keř je nižší. Kosterní větve jsou šedohnědé a pokryté borkou. Černý bez má lichozpeřené listy s 5–7 lístky kopinatého až vejčitého tvaru. Vrcholičnaté květenství má pětičetné a ploše miskovité květy. Černý bez má polospodní, třípouzdrý semeník s trojlaločnou bliznou. Tyčinky s většími žlutými prašníky s větším množstvím pylu. Plodem je peckovička kulovitého tvaru o průměru 4–5,5 mm, trojpouzdrá s červeno-purpurovou barvou.[10] Kulturní formy se množí

polodřevitými, dřevitými i bylinnými řízky. Není třeba chemického ošetření, jen listy bývají příležitostně napadané mšicemi. Pěstování černého bezu je z ekologického hlediska vhodné. [17]

Tabulka 5: Taxonomické zařazení černého bezu [6]

Říše	<i>Plantae</i>	rostliny
Podříše	<i>Tracheobionta</i>	cévnaté
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>	krytosemenné
Podkmen	<i>Spermatophyta</i>	semenné
Třída	<i>Rosopsida</i>	dvouděložné
Řád	<i>Dipsacales</i>	štětkovité
Čeleď	<i>Caprifoliaceae</i>	zimolezovité
Rod	<i>Sambucus</i>	bezovité

Květy obsahují alkaloidy, silice 0,03–0,14 %, glykosidy a sliz.[10] Dřevo, listy a méně zralé plody mohou být nebezpečné, protože obsahují kyanogenní glykosid sambunigrin, který je mírně jedovatý.[17] Mohou proto vyvolat žaludeční a střevní potíže.[23] Avšak v dobře vyzrálých plodech, při zahřátí na pasterační teplotu nebo při fermentaci se tyto alkaloidy rozpadají a v hotových výrobcích se pak nevyskytují.

Plody, kterým se lidově říká bezinky, obsahují také cukry, organické kyseliny, vitamíny C a B₁, provitamin A a pektiny. Dále obsahují silice 0,01 %, anthokyany 0,2–1 %, třísloviny 3 %, glykosidy, sacharidy 7,5 %, karoten. Černý bez má také vysoký obsah draslíku, vápníku a sodíku, obsahuje také aminokyseliny. Bezová kůra obsahuje pryskyřice, žlutý olej, kyselinu valerovou a třísloviny.[23]

Využití černého bezu:

Bezinky se v domácnostech zpracovávají na šťávy, marmelády, povidla i na víno a likéry. Plody a květy se často suší. Z květenství se vyrábí čaj, limonády i ocet. V poslední době se koncentrát z bezinkové šťávy používá i jako přírodní barvivo do jiných výrobků.

Plody černého bezu obsahují alkaloid sambucin, který se v lidové medicíně používá jako přírodní antibiotikum nebo lék proti skleróze.[10] Působí také proti migrénám i jako doplňková léčba při revmatických potížích.[17]

Pití většího množství čaje z květů působí potopudně, močopudně a má schopnost zvyšovat vyměšování hlenu z průdušek. Zjevně se uplatňuje v kloktadlech a koupelích. Surové plody se uplatňují jako projímadlo.[24]

2.1.6 Růže šípková (*Rosa canina*)

Šípek pochází z Evropy až střední Asie. Jedná se o vysoký keř s převislými a stejnotvarými větvemi, srpovitě zahnutými trny. Na spodní straně jsou listy bez žlázek. Listy jsou lichozpeřené, pětičetné a sedmičetné. Růžové květy průměr 5 cm. Nepravé plody tvoří češule. Jsou vejčité až kulovité, lysé a uvnitř chlupaté. Vlastní plody jsou světlé, tvrdé a hranaté.[24]



Obrázek 7: Plody šípkové růže [24]

Tabulka 6: Taxonomické zařazení růže šípkové [26]

Říše	<i>Plantae</i>	rostliny
Podříše	<i>Tracheobionta</i>	cévnaté
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>	krytosemenné
Třída	<i>Rosopsida</i>	dvouděložné
Řád	<i>Rosales</i>	růžotvaré
Čeleď	<i>Rosaceae</i>	růžovité
Rod	<i>Rosa</i>	růže

Ve slupkách šípku je mnoho vitamínu C, jehož obsah kolísá mezi 0,2 až 1 %. Zdrojem vitamínu C jsou pouze čerstvé šípky, sušením velmi rychle ubývá. Obsahují také větší množství vitamínu B, E a K. Vitamíny se uchovávají nejlépe v podobě džemu, marmelád nebo šípkových povidel. Dále šípky obsahují pektiny, ovocné kyseliny, karotenoidy, cukr, třísloviny, éterický olej. V jádrech je obsažený olej, proteiny, fosfolipidy. Olej má vysoký obsah nenasycených mastných kyselin a vitamínu A. Příznivě ovlivňuje hojení jizev a vyhlazování vrásek. Na základě obsahu pektinů a ovocných kyselin působí močopudně a projímavě.[24] Šípková růže obsahuje draslík, fosfor, vápník, železo a 30 % cukru.[18]

Léčivé účinky:

Šípky posilují imunitní systém, pomáhají proti chřipce a nachlazení. Dále podporují krevotvorbu, zpevňují cévy, léčí nemoci močového ústrojí, působí projímavě ve větším množství, zastavují krvácení dásní a léčí paradontózu, pomáhají proti onemocnění nervového systému, podporují soustředění, působí proti průjmům.

Využití růže šípkové:

Šípky se využívají v potravinářském průmyslu i v lidové kuchyni. Připravují se z nich zavařeniny, sirupy, dětská výživa a domácí vína.[27] Zpracovávají se na protlaky, omáčky a marmelády.[12]

V létě kvetou šípky světle růžovými květy. Z nich se vyrábí růžová voda nebo olej, který se používá v kosmetice.

2.1.7 Aronie (*Aronia melanocarpa*)

Aronie, český název je temnoplodec černý, lidově se nazývá černým jeřábem. Plody aronie obsahují velké množství biologicky aktivních látek. Aronie melanocarpa se v Americe vyskytuje jako volně rostoucí v oblasti Velkých jezer. V Evropě se pěstuje zejména ve Finsku, Dánsku a ve státech bývalého Sovětského svazu. V České republice je dosud pěstována jediná šlechtěná odrůda Nero, která odolává nepříznivým klimatickým podmínkám. [20]

Tabulka 7: Taxonomické zařazení aronie [20]

Říše	<i>Plantae</i>	rostliny
Podříše	<i>Cormobionta</i>	vyšší rostliny
Oddělení	<i>Magnoliophyta</i>	krytosemenné
Třída	<i>Rosopsida</i>	dvouděložné
Řád	<i>Rosales</i>	růžotvaré
Čeleď	<i>Rosaceae</i>	růžovité
Rod	<i>Aronia</i>	aronia



Obrázek 8: Plody aronie [28]

Aronie je opadavý keř, který dorůstá do výšky 90–360 centimetru. Aronie má zoubkovité listy, zelené barvy s vystouplou želatinou podél středové rýhy. Na jaře rostou oboupohlavní květy, rostou ve shlucích. Květy mají 5 okvětních lístků, bílou barvu a růžové prašníky. Plody začínají od půli a v podzimním létě. Po dozrání mají fialovo-černou barvu. Plody obsahují velké množství šťávy, fialové barvy.[20]

Chemické složení závisí na různých faktorech, je ovlivňováno odrůdou, hnojením, lokalitou pěstování a mírou zralosti plodů. Aronie obsahují především vitamín C 200 mg.l^{-1} , dále velké množství sorbitolu, polyfenolů a anthokyanů. V plodech je naopak málo vlákniny, bílkovin a lipidů. Jsou také výborným zdrojem minerálů, a to zejména draslíku a zinku, obsahují i sodík, draslík, vápník, hořčík, železo.[20]

Využití aronie:

Aronie je keř používaný v krajinářské výsadbě. Na jaře se vyznačuje bílými květy, červeně zbarvenými listy a temně fialovými plody na podzim.

Plody aronie je možno zpracovávat vylisováním na šťávu nebo je konzervovat celé. Šťáva je vhodná na výrobu želé anebo různých zdravých nápojů. Aroniové džusy obsahují velké množství flavonoidů a anthokyanů, které dají šťávě specifickou červenou barvu. Stabilní červené barvivo je využíváno v potravinářském průmyslu.

Díky vysokému obsahu flavonoidů a anthokyanů jsou plody využívány i ve zdravotnictví. Výzkumy ukazují, že napomáhá cirkulaci krve, chrání vylučovací soustavu a posiluje srdce. Mají také podpůrný vliv při léčbě rakoviny a kardiovaskulárních onemocnění.[20]

2.2 KONZERVACE POTRAVIN

Při zahřátí potravin dochází k denaturaci bílkovin (při teplotách vyšších než cca 55 °C), to vede k inaktivaci mikroorganismů, nežádoucích enzymů, které mohou negativně ovlivňovat vlastnosti produktu (termostabilní proteasy, lipasy). Záhřevem může být inaktivován botulotoxin, který se varem rozkládá, naopak termostabilní toxiny (enterotoxin) zůstávají beze změny i po několikahodinovém varu.[29]

Podle použitých podmínek se dělí:

Pasterace je ošetření potravin za použití teplot do 100 °C. Slouží k inaktivaci vegetativních forem mikroorganismů. Účinek pasterace není dostatečný pro inaktivaci bakteriálních spor.[29]

Sterilace je ošetření potravin při použití teplot vyšších než 100 °C. Způsobuje inaktivaci většiny bakteriálních spor a vegetativních forem mikroorganismu. Pokud sterilizujeme potraviny, které mají $\text{pH} \geq 4$ (málo kyselé), tak se musí použít teplota 120 °C, protože musí být inaktivovány bakteriální spory a vegetativní formy mikroorganismu.[29]

Absolutní sterilita produktu je inaktivace všech přítomných mikroorganismů. Takový zákrok je sterilizací. Pro většinu potravin tento zákrok není nutný.

Praktická sterilita je snížení mikrobiální kontaminace produktu na zdravotní nezávadnost a stabilitu po dobu očekávané trvanlivosti. Produkt není sterilní, ale je tu přítomen takový počet mikroorganismů, které nám neohrozí produkt.[29]

2.2.1 Vliv záhřevu na mikroorganismy

K inaktivaci buněk dochází po dosažení inaktivační teploty, která vede k přerušení vitálních funkcí.[29]

Volba zákroku pro účinek závisí na těchto parametrech:[29]

- kontaminující mikroorganismus
- potravina, na její kyselosti a aktivitě vody
- počáteční koncentrace kontaminujícího mikroorganismu

Potraviny mohou být kontaminovány mikroorganismy, jako jsou plísně, kvasinky, bakterie a viry. Jednotlivé skupiny mikroorganismů jsou různě citlivé na účinky záhřevu. Konzervace se plánuje a hodnotí podle účinku na mikroorganismy škodlivé na dané potraviny. Při pH nižším než 4,0 jsou možnými kontaminanty jen vegetativní buňky. Přítomné spory

patogenů v kyselém prostředí neklíčí, pak jejich inaktivace není potřebná. Se snižováním pH, vzrůstá účinnost záhřevu. S klesající aktivitou vody klesá aktivita přítomných mikroorganismů, ale roste jejich odolnost proti zvýšeným teplotám.[29]

2.3 SENZORICKÁ ANALÝZA

Se stále rostoucí životní úrovni obyvatelstva rostou nároky na jakost potravin. Důležitou složkou jakosti je senzorická jakost (smysly postřehnutelná jakost).[30]

2.3.1 Definice senzorické analýzy

Senzorickou analýzu definujeme jako hodnocení potravin našimi smysly, přičemž výsledky jsou zpracovány lidským centrálním nervovým systémem. Analýza probíhá za zajištěných objektivních, přesných (to znamená opakovatelných i srovnatelných) a reprodukovatelných měření.[30]

2.3.2 Podmínky senzorické analýzy

Podmínky pro senzorické hodnocení se volí takové, aby se co nejvíce odstranily rušivé vlivy a zlepšila se tak přesnost stanovení. Podmínky jsou určeny mezinárodními normami, které definují vybavení místnosti, způsob přípravy a překládání vzorku. Další normy stanovují používání správného názvosloví, školení, postupy metod senzorické analýzy a zkoušení hodnotitelů.[30]

2.3.3 Úloha hodnotitele při senzorické analýze

Osoby, které se zúčastňují analýzy, se nazývají hodnotitelé nebo posuzovatelé, mezinárodním termínem asesori. Tyto osoby tvoří soubor, dříve panel. Konsumentem se označuje hodnotitel, který není odborně vzdělán, takže jeho názory jsou blízké názorům a výsledkům skutečných spotřebitelů.[31]

2.3.4 Vlastnosti potravin sledované senzorickou analýzou

Hodnotitel hodnotí potraviny komplexně s použitím všech smyslů. Hodnotí se vjemy zrakovými, sluchovými, chuťovými, čichovými, taktilními, kinestetickými, bolestmi a teplotami. Součástí hodnocení je zpracování smyslových informací na vjem centrální nervové soustavě.[31]

2.3.5 Intenzitní a hedonické hodnocení

Pomocí psychiky hodnotí člověk nejprve přijatelnost a příjemnost vjemu, toto hodnocení je hédonické. Při dalším posuzování si člověk všímá intenzity vjemů a toto hodnocení se nazývá intenzitní, je obtížnější, vyžaduje více pozornosti a zkušeností.[31]

2.3.6 Hodnocení komplexní a detailů

Lidská psychika hodnotí nejprve komplexně, hodnotí potravinu po všech stránkách senzorických. Teprve při dalším posuzování si začne všímat detailů, toto hodnocení je

obtížnější a vyžaduje pozornost, zkušenost a speciální školení. Například nejprve se hodnotí příjemnost chuti celkově a pak sladké, kyselé nebo slané chuti.[31]

2.3.7 Doba a délka hodnocení

Nejvhodnější denní dobou k hodnocení se doporučuje doba od 9 do 11 hodin dopoledne a od 14 do 16 hodin odpoledne. Hodnocení by nemělo trvat déle jak 2–3 hodiny denně včetně přestávek. Při degustaci se doporučují 20–30 minutové přestávky, při hodnocení barvy a textury mohou být přestávky kratší, z důvodu menší námahy.[31]

Vzorky se podávají jako jedna řada. Počet vzorků se podává podle složitosti úkolu. Pokud se jedná o degustaci, nemělo by se podávat více než 4 až 6 vzorků najednou. Při složitějších úlohách dokonce jen 2 až 3 vzorky. Při degustaci dvou po sobě následujících vzorků je důležitá přestávka 40 až 100 sekund po spolknutí předchozího vzorku, aby se zregenerovaly chuťové receptory. U hodnocení senzoricky výrazných se musí počkat déle.[31]

U hodnocení vůně lze senzoricky analyzovat 10 až 15 vzorků, mezi dvěma po sobě následujícími vzorky stačí čekat 25 až 50 sekund. Při hodnocení texturních vlastností se může podávat asi 15 vzorků, pokud se hodnotí texturní vlastnosti degustací, nemá být vzorků více jak 6. K hodnocení vzhledu, barvy a zákalu se podává i 20 až 50 vzorků. Při degustacích doznívá chuť vzorku delší dobu, a proto se mezi jednotlivými vzorky podává vhodný chuťový neutralizátor.[31]

2.3.8 Vlastní senzorické hodnocení

Vzorky musejí být nejprve upravené tak, aby nemohl být ovlivněn výsledek hodnotitele, například nesmí mu být znám výrobce, složení výrobku. Mohou být však obeznámeni s účelem pokusu a s významem získaných informací.[30]

Potravinářské vzorky se předkládají temperované na teplotu, při které bývá běžně konzumován. Mražené vzorky se hodnotí tak, že se část informací získává z mraženého stavu a druhá část po rozmrazení. Teplotu je třeba dodržovat, protože výsledky značně závisí na teplotě. Do protokolu se uvádí teplota hodnocení. Pokud se srovnává teplota několika vzorků, musí mít všechny stejnou teplotu.[30]

Potravinářské vzorky se podávají k hodnocení s přestávkami. Ve stejných nádobách. Teploty a množství musejí být stejné. Někdy se musí podávat pro srovnání vzorek standardní.

Po předložení vzorků jsou hodnotitelé instruováni o svém úkolu a o použité metodě a jsou jim rozdány protokolové formuláře s pokyny, jak se mají vyplňovat.[30]

Po předložení vzorku ochutná posuzovatel množství odpovídající asi jedné polévkové lžíci. U tuhých vzorků sousto dobře rozžvýká a všímá si jednotlivých chutí. Při degustaci tekutých vzorků pohyby jazyka posunuje douškem tak, aby smočil celou ústní dutinu, aby se vytemperoval na teplotu ústní dutiny a aby páry sensoricky aktivních látek mohly proniknout do nosní dutiny a vejít ve styk s čichovými receptory. Chuť se nejlépe hodnotí, jestliže se vzorek spolkne. Některé chutě se projeví až za 20 sekund. Někdy může po polykání vzorku dojít ke zhoršení kvality hodnocení.[30]

Při hodnocení několika vzorku, je dobré si po spolknutí vypláchnout ústa, počkat asi 1 minutu, a pak ochutnat další vzorek. O výsledku musíme rychle rozhodnout a výsledek zapsat, protože příliš dlouhé rozhodování zhoršuje kvalitu posouzení. Pokud hodnotitel není schopen rozpoznat chuť, osvědčuje se, aby si vypláchnul ústa, odpočinul si 2 až 3 minuty a pak hodnocení opakoval s větším množstvím vzorku.[30]

U hodnocení barvy se vzorky prohlížejí proti bílému pozadí. Textura vzorku se hodnotí pomocí prstů a potom v ústech. Vůně se hodnotí vždy před hodnocením chuti. Při komplexním hodnocení, nejprve hodnotíme vzhled, barvu, vůni, pak teprve chuť a nakonec texturu.[30]

Protokolový formulář - jedná se o předčištěné blankety. Před hodnocením se vyplní vedlejší údaje, jako je jméno, datum a doba hodnocení, zdravotní stav, a kód vzorku. Po hodnocení se protokol zkontroluje a vyplní se všechny požadované údaje.[30]

Po ukončení sensorické analýzy organizátor zkontroluje, zda jsou protokoly správně vyplněny a prodiskutuje s hodnotiteli výsledky a chyby i potíže při analýze.[30]

2.4 FENOLICKÉ LÁTKY

Několik tisíc polyfenolických látek složených z jednoho nebo více aromatických kruhů, obsahují dvě a více hydroxylových skupin, které jsou navázány přímo na aromatické jádro, byly zjištěny ve vyšších rostlinách a několik set se jich nachází v jedlých rostlinách. Polyfenoly jsou snadno oxidovatelné, obsah fenolů je ovlivňován skladováním. Polyfenolické látky ovlivňují organoleptické vlastnosti potravin, přispívají k barvě ovoce, jejich hořkosti a svravosti. Tyto změny mohou být i prospěšné, například u černého čaje a v některých případech ne, u hnědnutí ovoce.[32, 33]

Polyfenolické látky jsou sekundárními metabolity rostlin. Slouží například jako ochrana před UV zářením, patogeny, býložravci, oxidačním stresem, i jako signální molekuly. Živočichové nejsou schopni produkovat polyfenoly, a proto je do těla přijímají v potravě. Hlavními zdroji polyfenolů je bobulovité ovoce, zelenina, můžeme je najít v červeném víně, v rybízu i v čaji a vyskytují se v téměř ve všech rostlinách.[33, 34]

Pro člověka jsou polyfenolické látky nepostradatelnou součástí stravy. Slouží k prevenci degenerativních a nádorových onemocnění a mají antioxidantní účinek. Pozitivně ovlivňují hladinu cholesterolu v krvi a pomáhají proti kardiovaskulárním a neurodegenerativním onemocněním.

Zdravotní účinky polyfenolických látek závisí na spotřebovaném množství a na biologické dostupnosti. Ta se velmi liší mezi různými polyfenoly. Nejhojnější polyfenoly v potravě nejsou nutně ty, které mají nejlepší biologický dostupnostní profil.[33, 34]

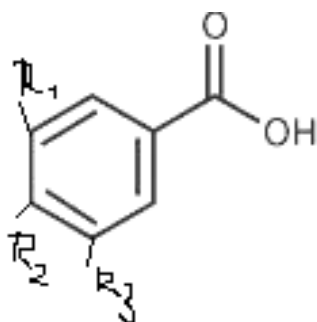
2.4.1 Dělení polyfenolických látek

Polyfenoly se dělí do několika skupin podle počtu fenolových kruhů. Základní rozdělení je na flavonoidy a nonflavonoidy. Flavonoidy jsou anthokyany, flavanoly, dihydroflavanoly, flavonoly. Sdílejí společnou strukturu skládající se ze dvou aromatických kruhů (A, B), které jsou spojeny až třemi atomy uhlíku a tvoří heterocyklus (kruh C). Nonflavonoidy jsou kyseliny hydroxybenzoové, kyseliny hydroxyskořicové, stilbeny a třkavé fenoly.[33, 35]

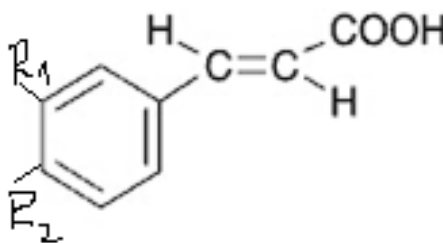
2.4.1.1 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny jsou deriváty kyseliny benzoové a kyseliny skořicové. Na aromatickém kruhu musí být jeden vodík substituovaný hydroxylovou skupinou. [33, 36]

Deriváty kyseliny benzoové jsou kyselina salicylová, protokatechová, gallová, vanilová, hydroxybenzoová a deriváty kyseliny skořicové jsou kyseliny fumarová, ferulová, sinapová a kávová. [33, 34]



kyselina benzoová



kyselina skořicová

Deriváty:

$R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$: kyselina protokatechová $R_1 = \text{OH}$: kyselina kumarová

$R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: kyselina gallová $R_1 = R_2 = \text{OH}$: kyselina kávová

$R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{OH}$: kyselina ferulová

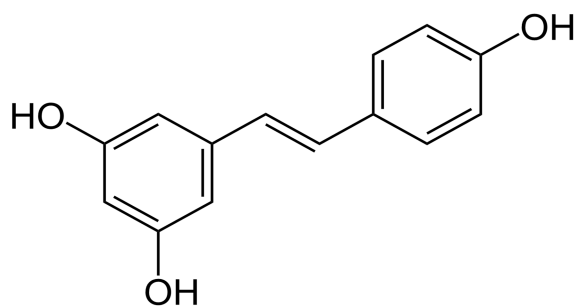
Nejvýznamnějšími polyfenoly jsou deriváty kyseliny gallové označované jako tanniny, neboli třísloviny. Vznikají esterifikací kyseliny gallové s jednoduchým sacharidem. Třísloviny se dělí na hydrolyzovatelné a kondenzované. Hydrolyzovatelné tanniny se dělí na gallotaniny, pokud při jejich hydrolýze vzniká jen kyselina gallová, a ellagotaniny, pokud při hydrolýze vzniká kyselina ellagová. Kondenzované třísloviny, označované také jako proanthokyanidiny, vznikají kondenzací monomerních flavanolů.[37] Proanthokyanidiny jsou dimery nebo oligomery, které jsou spojeny vazbami na C4 a C8. Kondenzované taniny způsobují svíravou chuť ovoce nebo hořkost čokolády.[33]

Deriváty kyseliny benzoové se v rostlinách volně nevyskytují, vyskytují se vázané na sacharidy nebo organické kyseliny. Mají antioxidační a antikarcinogenní účinky a také snižují obsah lipidů v krvi. Deriváty kyseliny skořicové se v rostlinách nachází pouze zřídka, jsou vázané na sacharid nebo na kyselinu. Tyto deriváty mají antikarcinogenní účinek, snižují srážlivost krve a chrání před autoimunitními chorobami.[38]

2.4.1.2 Stilbeny

Stilbeny jsou produktem fenylpropanoidacetátové dráhy. V rostlinách nejsou velmi rozšířené. Vyskytují se buď ve volné formě, nebo vázané jako glykosidy. Stilbeny mají antioxidační a antikarcinogenní účinky.

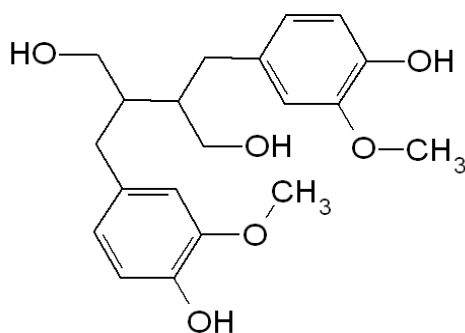
Nejvýznamnějším zástupcem je resveratrol (3,4,5'-trihydroxystilben). Je to fytoalexin vyskytující se v geometrické formě cis a trans. Nalézá se ve slupkách různého ovoce a především v červené vinné révě. V hroznech bílé révy je jeho obsah nižší. Vyskytuje se i v různých druzích zeleniny a ořechů.[35]



resveratrol

2.4.1.3 Lignany

Jsou řazeny mezi fenylpropanoidy, jsou rozsáhlou skupinou díky své strukturní variabilitě a rozsahu biologických účinků. Jedná se o glykosidy, jejichž aglykon tvoří koniferolalkohol. Lignany tvoří dimery vzniklé spojením dvou fenylpropanových jednotek způsobem C₆-C₃-C₃-C₆. [39]



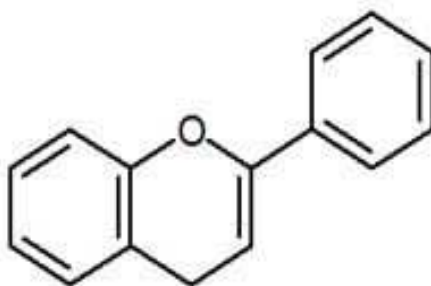
secoisolariciresinol

Lignany jsou imitátory estrogenních látek, jsou metabolizovány střevní mikroflórou na enterolakton a enterodiol. Redukují v těle vliv estrogenu jeho odsunutím z buněk a to vede k prevenci proti nádorovým onemocněním.

Lignany se nacházejí ve dřevě a v pryskyřicích. Jsou přítomny v plodech obilovin, lněných semínkách, luštěninách, kávových bobech, ořeších. Jsou přítomny v zelenině – např. v rajčatech, česneku, mrkvi. Dále se vyskytují v ovoci - v hruškách jahodách, brusinkách, ve švestkách. Lignany mají antioxidační účinky, slouží jako prevence proti vzniku nádorových onemocnění.[33, 34]

2.4.1.4 Flavonoidy

Existuje přes 5000 látek, které se řadí mezi flavonoidy. Flavonoidy jsou odvozené od flavanu, hlavní skupinu tvoří 2-fenyl-1,4-benzopyron. Skládá se ze dvou aromatických kruhů A, B, které jsou spojeny třemi atomy uhlíku, které tvoří kyslíkatý heterocyklus C. Množství a pořadí navázaných hydroxylových skupin, stupeň alkylace a glykosidace ovlivňuje vlastnosti flavonoidů.



flavan

Flavonoidy jsou obsaženy v listech, květech a v plodech. Vyskytují se jak ve volné, tak i ve vázané formě. Nejdůležitější význam mají vázané flavonoidy ve formě glykosidů. Jsou důležitým antioxidanty, snižují vznik kardiovaskulárních chorob a kornatění tepen. Mají i opačný účinek, působí jako prooxidant v molekule flavonoidů především vázané ionty kovů (ionty železa, mědi, niklu a molybdenanu). Flavonoidy jsou děleny do několika skupin na flavanoly, flavanony, flavony, flavonoly, proanthokyanidiny, anthokyanidiny a izoflavony.[19]

2.4.1.5 Flavonoly

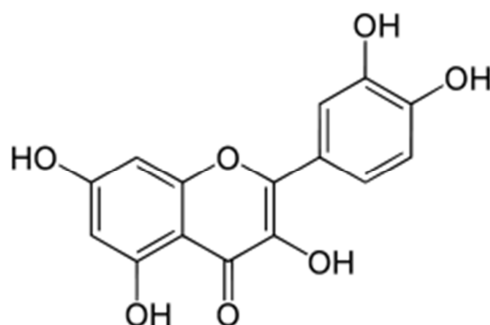
Jsou to nejvíce přítomné flavonoidy v potravinách. Nejvýznamnějšími zástupci jsou kvercetin, kemferol a myricetin.

Flavonoly jsou žlutá barviva, vyskytující se ve formě glykosidů. Jako cukerná jednotka je nejčastěji vázána glukóza nebo rhamnóza. Zapojeny mohou být ale i jiné cukry jako např. galaktóza, arabinóza, xylóza, kyselina glukuronová.

Flavonoly jsou obsaženy hlavně ve slupkách a listech. Množství v plodech je přímo úměrné dopadajícímu záření. Červené odrůdy ovoce obsahují více flavonoidů než světlé odrůdy. Nejbohatšími zdroji jsou cibule, kapusta, pórek, brokolice, borůvky, červené víno a čaj. Dále jsou také obsaženy v listové zelenině, jako je hlávkový salát a zelí.[32, 33]

Kvercetin

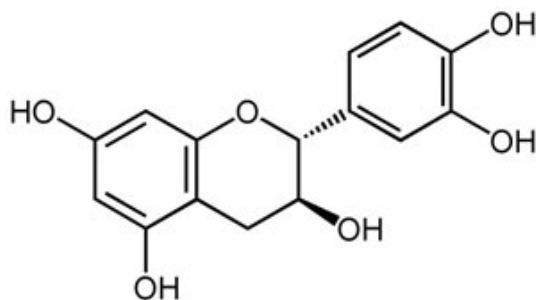
Kvercetin má souvislost s léčbou nádorových onemocnění, má protizánětlivé účinky, působí proti srážlivosti krve a antiateroskleroticky. V přirozené formě je neaktivní, aktivuje se až působením střevní mikroflóry. Nachází se v cibuli, pórků, česneku a v šalotce. [40]



kvercetin

2.4.1.6 Flavanoly

V rostlinách se vyskytují ve formě monomerů a oligomerů. Nejznámějšími zástupci jsou katechiny. V rostlinách se nacházejí jak ve volné, tak vázané formě. Katechiny způsobují zákal vína, které vznikají jejich reakcí s bílkovinami. Jsou zastoupeny v hroznech, v červeném víně, meruňkách, ve švestkách, jablkách a v zeleném čaji. Také jsou přítomné v čokoládě. Mají antioxidační účinky, působí proti hromadění tukových plátů a snižují i riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění.[33, 34]

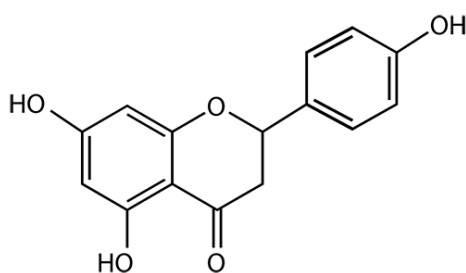


katechiny

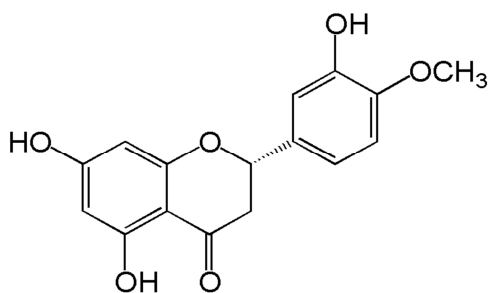
2.4.1.7 Flavanony

Jedná se o světle žluté nebo bezbarvé glykosylované disacharidy. Flavanony jsou obsaženy hlavně v citrusech, proto jsou nazývány také jako „citrusové“ flavonoidy. Dále se vyskytují v rajčatech nebo bylinách. [33]

Hlavními zástupci jsou naringenin, hesperetin a jejich glykosidy. Mají antioxidační, hypocholesteromickou a hypoglykemickou aktivitu, prevence proti nádorům a ztrátě kostní hmoty.[41]



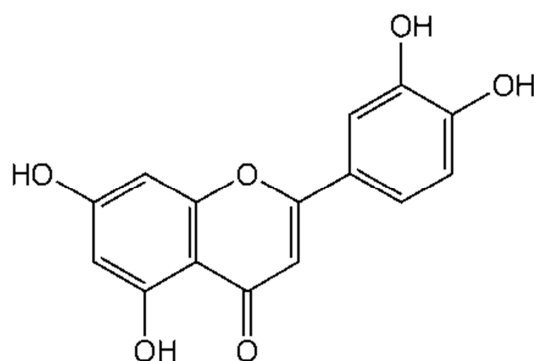
naringenin



hesperetin

2.4.1.8 Flavony

Flavony jsou žluté pigmenty rostlin, které se v rostlinách nacházejí společně s flavonoly. Vyskytují se v nižších koncentracích ve srovnání s flavonoly a ve formě glykosidů nebo esterů. Nejznámějšími flavony jsou apigenin a luteolin. Hlavním zdrojem jsou citrusové plody, byliny, červená paprika, petržel a celer. [42]

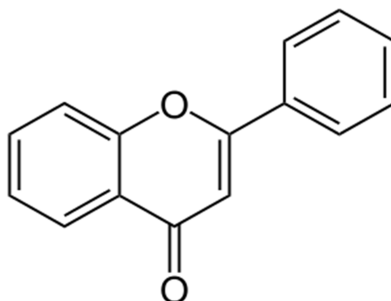


luteolin

2.4.1.9 Isoflavony

Isoflavony se strukturou podobají estrogenům, protože obsahují v poloze 4 a 7 hydroxylové skupiny. Slouží jako ochrana rostlin proti napadení hmyzem, škůdci a infekcí. Nacházejí se především v luštěninách, v sóje.

V lidském organizmu po navázání isoflavonu na estrogenové receptory dochází k produkci fytoestrogenu. Ty pozitivně ovlivňují lidský organismus, pomáhají při léčbě rakoviny prsu a prostaty či kardiovaskulárních onemocněních. Mají vliv i na regulaci menstruačního cyklu.[33]



isoflavony

2.4.2 Faktory ovlivňující obsah fenolických látek

Faktory, které ovlivňují obsah fenolických látek v ovoci a zelenině, jsou klimatické a agronomické podmínky při pěstování. Velký vliv má také prostředí, skladování a zpracování po sklizni. Při skladování dochází např. ke změně barvy a organoleptických vlastností potravinářských surovin. Vlivem oxidace se tedy mění i obsah fenolických látek.

Oloupáním slupek při zpracování ovoce a zeleniny se odstraní podstatná část fenolických látek. Při rozmělnování matric může dojít k oxidaci fenolických látek, které poté hnědnou. Hnědnutí lze zamezit určitými stabilizačními kroky. Obsah fenolických látek

v ovoci a zelenině se také snižuje vařením. Proto je lepší připravovat tyto suroviny v páře, neboť tak nedochází k vyplavování fenolických látek do vody.[33]

2.4.3 Metody stanovení fenolických látek

Polyfenolické látky se stanovují čtyřmi základními způsoby. Spektrofotometricky Folin-Ciocalteuovým činidlem, reakcí s 4-aminoantipyrinidem (AAPM), dále postupem podle Price a Butlera (PBM) a redukcí mědi (CUPRAC). Nejčastější metodou z výše uvedených je využití Folin-Ciocalteuova činidla.[42]

2.4.3.1 Spektrofotometrické stanovení celkových fenolů podle Folin Ciocalteua

I přesto, že kvantitativnímu stanovení fenolů, brání jejich strukturní složitosti a různorodost, existuje několik metod jejich stanovení.

Metoda Folin-Ciocalteua je jednoduchou metodou, která se může použít pro vzorky rostlinných šťáv a poskytuje snadno pozorovatelné hodnoty. Nejčastěji se používá pro stanovení fenolických látek ve víně. Folin-Ciocalteuovo činidlo je intenzivně žlutý roztok, který je připravený z wolframanu sodného, molybdenanu sodného, koncentrované kyseliny chlorovodíkové, kyseliny fosforečné, síranu lithného a destilované vody. Z isopolyfosfowolframanů a isopolyfosfomolybdenanů se vytvoří složité smíšené komplexní sloučeniny. S nimi potom reagují fenolické látky obsažené ve vzorku. Oxidují se a uvolňují elektrony, které se adují do nevazebných orbitalů MoO^{4+} . Přes vratné jedoelektronové a dvoelektronové přenosy dochází k redukci na MoO^{3+} jednotky, které jsou modře zbarvené. Wolframany jsou citlivější na jedoelektronové přenosy. Sloučeniny nejsou dosud detailně prozkoumány, výsledným produktem může být například $(\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40})^{4-}$. Redukce činidla a intenzita modrého zbarvení jsou úměrné množství fenolických látek ve vzorku. Pro spektrofotometrické stanovení se nejčastěji používají vlnové délky 750-760 nm.[43]

2.4.4 Fotometrické metody

Principem těchto metod je průchod světla látkou, při kterém dochází k pohlcení části světelného spektra. Pohlcení světla neboli absorpce je fyzikální proces. Zachycená energie světla je přeměněna na energii kinetickou a na teplo, nebo může být opět vyzářena. Míra absorpce je vyjádřena absorpčním koeficientem. Vstupními předpoklady pro fotometrické metody jsou spektrum, rozklad světla, intenzita světla, koncentrace, výpočet a kalibrační křivka.[44]

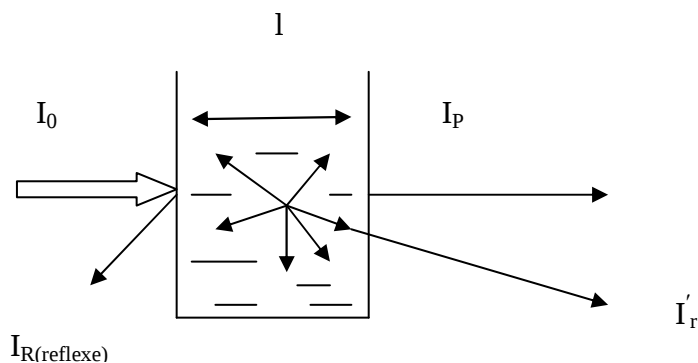
Fotometrické metody jsou děleny na: spektrofotometrii, kolorimetrii, atomovou absorpční spektroskopii, fluorimetrii a zákalové metody (turbidimetrie, nefelometrie).

2.4.4.1 Spektrofotometrie ve viditelné a ultrafialové oblasti (190 až 800 nm)

Spektrofotometrie je využívána pro stanovení analytů v odměrné analýze. Jedná se o analyty anorganické, organické a biochemické, které jsou stanovovány přímo měřením absorbance.[45]

Spektrofotometrie ve viditelné a ultrafialové oblasti je založena na principu absorbování světelného záření různých délek molekulami sloučenin v roztoku. Pohlcené záření způsobuje přechody elektronů mezi energetickými hladinami valenčních orbitalů. Mění se i energie v rotačních a vibračních hladinách i v elektronových orbitalech. Excitovaná molekula přejde do základního stavu za 10^{-8} s za současného vyzáření energie. Tato energie je vzápětí přeměněna na energii tepelnou, a tím se zvyšuje energie kinetická. Absorbované záření může být doprovázeno rozptylem na koloidních micelách, částech nebo makromolekulách.[45,46]

U vyhodnocování je důležité, aby reflexe, difúzní rozptyl a vznik luminiscence byly zanedbatelné.[46]



Obrázek 9: Interakce UV-VIS záření s roztokem v kyvetě [47]

I'_r je difúzní rozptyl, I_R je reflexe záření od stěn kyvety, I_p je propuštěné záření, I_0 je primární záření, l je délka absorpční vrstvy.

2.4.4.2 Spektrofotometrické veličiny

Transmittance neboli propustnost je měrnou spektrofotometrickou veličinou a je vyjadřována v procentech. Při měření intenzity světla zaznamenáváme pokles intenzity, poté co paprsek světla prošel vzorkem.[44]

Hodnota poklesu intenzity je vyjadřována vztahem: [45]

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$$T\% = \frac{I}{I_0} \cdot 100$$

I_0 je intenzita dopadajícího záření a I je intenzita prošlého záření.

U látek čirých se pokles nezaznamenává, a však některé čiré látky jsou takto měřitelné v UV oblasti, kde vykazují absorpci. Transmittance závisí na molárním extinkčním koeficientu, délce kyvety a koncentraci absorbující látky. Závislost transmittance na koncentraci má exponenciální růst.[44]

Absorbance se vyjadřuje jako logaritmus transmittance. Hodnoty transmittance se logaritmují z důvodu získání lineární závislosti. Pokud by byla závislost ponechána v původní exponenciální podobě, podstatně hůře by se sestrojovala kalibrační závislost.[44]

Velikost absorbance závisí na stejných faktorech jako transmittance, tj. na koncentraci rozpuštěné látky, délce kyvety a na molárním extinkčním koeficientu látky. Tento vztah se nazývá Lambert – Beerův zákon.[44]

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c = -\log \frac{I}{I_0}$$

kde l je délka absorpční vrstvy, ε je extinkční koeficient a c koncentrace absorpční složky. I_0 je intenzita dopadajícího záření a I je intenzita prošlého záření.

Platí pro zředěné roztoky a monochromatické záření v heterogenních a homogenních soustavách. Absorbance závisí na povaze částic a je přímo úměrná počtu absorbujících částic.[46] S rostoucí koncentrací absorbující látky v roztoku klesá přesnost a správnost měření. Je proto nezbytné naředit měřené roztoky tak, aby se jejich absorbance pohybovaly v rozmezí od 0 do 1.[44]

2.4.4.3 Absorpční spektra molekul

Absorpční spektra molekul jsou závislosti absorbované nebo propuštěné záření na vlnové délce, vlnočtu nebo kmitočtu:[45]

$$T, \log A, A, \varepsilon, \log \varepsilon = f(\lambda, \bar{\nu})$$

kde T je transmitance, $\log A$ je hodnota absorbance po zlogaritmování, A je absorbance, ε je molární absorpční koeficient, $\log \varepsilon$ je molární absorpční koeficient po zlogaritmování, λ je vlnová délka, $\bar{\nu}$ je vlnčet.

Závislosti jsou kvalitativní charakteristikou analytu. Vyhodnocuje se počet, průběh a polohy absorpčních maxim a minim. Počet extrémních bodů na absorpční křivce dokazuje větší počet přechodů elektronů v molekule, přítomnost absorbujících látek v roztoku a přítomnost strukturních forem molekul. Vyskytují se i vibrační přechody molekul.[44]

2.4.4.4 Absorpční křivka

Absorpční křivka má vliv na barevnost látky v oblasti viditelného záření. Má pásový charakter a projevuje se vznikem píků. Nevyšší hodnota píků se označuje jako $\lambda_{\max}$, pokud nedochází k překryvu s absorpčními pásy dalších součástí měřeného vzorku, pak je tato vlnová délka nejvhodnější pro stanovení koncentrace dané látky v roztoku.[44]

Absorpční křivka v ultrafialové a viditelné oblasti je ovlivňována těmito faktory:[45]

- Vlivem teploty – ve zředěných roztocích dochází k posunu $\lambda_{\max}$ k delším vlnovým délkám, rozšiřují se absorpční maxima a mizí vibrační přechody.
- Vlivem iontové síly – mění tvar absorpčních křivek a to vysoká koncentrace inertních solí.
- Vliv rozpouštědla – bathochromní a hypochromní posun $\lambda_{\max}$. Bathochromní posun je posun k delším vlnovým délkám, který je vyvolaný modifikací molekuly nebo vlivem rozpouštědla. Hypochromní posun je posun ke kratším vlnovým délkám.
- Vliv tenzidů – ovlivňují spektra acidobazických forem organických činidel a jejich kovových chelátů.
- Vliv instrumentálních modulů – rychlý záznam spekter a vysoký šum přístroje poškozuje absorpční spektra. Velké vstupní štěrbiny způsobují široký pás monochromatického záření.

2.4.4.5 Barevnost látek

Absorpce v oblasti viditelného světla způsobuje barevnost látek. Barevná látka absorbuje barvu doplňkovou. Průhledná látka má barvu odpovídající záření, které neabsorbuje.[47]

Tabulka 8: Pozorované barvy při absorpci ve viditelné oblasti[47]

Pozorovaná barva	Barva absorbovaného světla	λ_{max} absorbovaného světla (nm)
žlutozelená	fialová	100-435
žlutá	modrá	435-480
oranžová	zelenomodrá	480-490
červená	modrozelená	490-500
purpurová	zelená	500-560
fialová	žlutozelená	560-580
modrá	žlutá	580-595
zelenomodrá	oranžová	595-605
modrozelená	červená	605-700

2.4.4.6 Využití UV – VIS spektrofotometrie

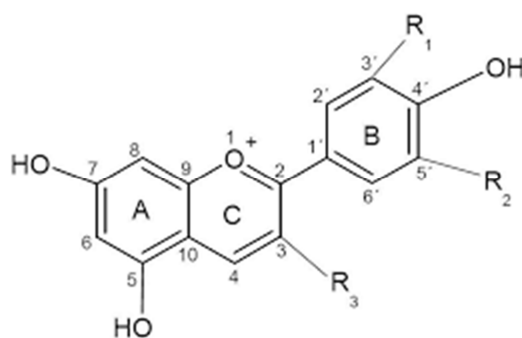
Spektrofotometricky se stanovují anionty nekovů, organické sloučeniny s heterocyklickými atomy, heterocykly, aromatické sloučeniny, sloučeniny s násobnými konjugovanými vazbami. Lze tuto metodu využít také ke stanovení analytů v chelátech, v komplexech a v iontových asociátech ve vodném a nevodném prostředí. Spektrofotometrie slouží ke stanovení drog a analytů ze životního prostředí a k analýze potravin. Používá se jako detekční technika při elektromigračních a chromatografických separačních metodách, stejně jako při průtokové injekční analýze. Lze ji využít i při titračním stanovení, případně extrakční, vícesložkové a derivační analýze.[46]

2.5 ANTHOKYANY

Anthokyany, jinak anthokyaniny, jsou rostlinná barviva, rozpustná ve vodě. Jsou to pigmenty rozpuštěné ve vakuolární mize epidermálních tkání plodů a květů. Způsobují zbarvení ovoce, zeleniny a květů. Čím více je ovoce barevnější, tím více obsahuje anthokyanů. Barevnost, kterou propůjčují rostlinám, silně závisí na pH a sahá od různých odstínů červené přes škálu fialových barev až k barvám modrým.[33, 41]

2.5.1 Chemická struktura

Anthokyany jsou glykosidy různých aglykonů a jsou odvozené od základní struktury 2-fenylbenzopyrolového (flavyliového) kationtu. V poloze C-4' jsou substituovány hydroxylovou skupinou a v ostatních polohách se substituenty liší. V polohách C-5, C-7, C-3' a C-5' mohou být navázány methoxyskupiny. Jako cukerné součásti anthokyanů se nejčastěji vyskytuje těchto pět sacharidů (D-glukosa, D-rhamnosa, D-galaktosa, D-xylosa a L-arabinosa). Sacharidy jsou navázány na aglykony (anthokyanidiny) v poloze C-3. Někdy je glykosylována další skupina, bývá to hydroxyl na pozici C-5.



flavylový kation

Podle počtu navázaných molekul sacharidů dělíme anthokyany do 18 skupin nejvýznamnějšími jsou:[34]

- monosidy s monosacharidy v poloze C-3
- biosidy s disacharidy vázané v poloze C-3
- triosidy s lineárními nebo rozvětvenými trisacharidy vázanými v poloze C-3
- 3,5-diglykosidy s monosacharidy v poloze C-3 a C-5
- 3,7-diglykosidy s monosacharidy v poloze C-3 a C-7
- 3-biosidy-5-monosidy, kde je v poloze C-3 navázán disacharid a v poloze C-5 jednoduchý sacharid

Chemické vlastnosti anthokyanů ovlivňuje poloha cukerné jednotky. Cukry bývají také acylovány různými fenolovými kyselinami, jako jsou kyselina kumarová, kávová, malonová a octová.[34]

2.5.2 Výskyt

Anthokyaniny jsou lokalizovány v buněčných vakuolách epidermálních buněk. Jsou syntetizovány v cytoplazmě multienzymovým komplexem ukotveným na endoplazmatickém retikulu. Bývají ve vakuolách stabilizovány interakcemi ion-ion s organickými kyselinami, například kyselinou maleinovou nebo kyselinou jablečnou. Zdrojem anthokyanů jsou nejčastěji tyto rostlinné čeledi: révovité (vinná réva), růžovité (maliny, jahody, třešně, švestky, jablka, ostružiny, hrušky), lilkovité (lilek), srskovité (červený a černý rybíz, červenoplodý angrešt), vřesovcovité (borůvky, brusinky) a odrůdy brambor s červenou slupkou.[33, 15]

2.5.3 Vlastnosti anthokyanů

Nejdůležitějšími vlastnostmi jsou barva a stabilita. Tyto vlastnosti bývají nízké, z důvodu mnoha faktorů, které je ovlivňují. Těmito faktory jsou teplota, struktura molekuly, pH prostředí, přítomnost enzymů, kyslíku a působení záření.[34]

2.5.3.1 Vliv teploty

Při vyšších teplotách se zvyšuje stabilita anthokyanů. Jedná se o ochranný efekt různých složek s kondenzací monomerů. S vyšší teplotou a delší dobou skladování se zvyšuje množství stabilnějších oligomerních pigmentů, které vznikají z monomerů. Oligomerní jednotky jsou nositeli barvy ovocných šťáv a červených vín.[34]

2.5.3.2 Vliv struktury

V kyselém prostředí je barva neacylovaných a monoacylovaných anthokyanů závislá na počtu a druhu substituentů aglykonu. Anthokyanidiny s větším počtem hydroxylových skupin mají modrou barvu, s methoxyskupinami jsou spíše červené. Glykosidy a acylderiváty glykosidů mají modré zbarvení. I druh substituentu má vliv na stabilitu anthokyanu. Pokud se vyskytuje vyšší počet hydroxylových skupin, jsou deriváty méně stabilní, zatímco deriváty s vyšším počtem methoxyskupin jsou stabilnější. Stabilitu ovlivňuje i druh navázaného cukru.[34]

2.5.3.3 Vliv pH prostředí

Stabilita anthokyanů a barva je ve vodném prostředí závislá na pH. Působením pH dochází k transformacím mezi pěti různými strukturami aglykonu.[34]

Při pH 1,0 a nižším mají anthokyany červené zbarvení flavyliové soli. Po zvýšení pH dochází k odbarvování a ke slábnutí červené barvy. Při pH 4,0 – 4,5 jsou anthokyany bezbarvé. Při zvyšování pH dojde k postupnému opětovnému červenému purpurovému zbarvení, které vzniká v důsledku tvorby neutrální chloidní báze. V slabě zásaditém prostředí dochází ke vzniku modrého zbarvení, vlivem dalšího zvýšení pH přejde do žlutého chalkonu.[34]

2.5.3.4 Další vlivy

Barvu anthokyanů ovlivňují i některé skupiny enzymů, např. glykosidasy a polyfenolooxidasy. Glykosidasy hydrolyzují glykosidové vazby anthokyanů za vzniku příslušného cukru a aglykonu. Nestabilní aglykon potom přechází do bezbarvé podoby. Polyfenolooxidasy působí při enzymovém hnědnutí.[34]

Působení viditelného, ultrafialového nebo ionizujícího záření způsobuje nestabilitu anthokyanů, dochází k rozkladu molekuly.[34]

2.5.4 Anthokyany a jejich funkce v živém organismu

Anthokyany jsou důležité při prevenci onemocnění. Mají antioxidační, protinádorové, antimikrobiální a protizánětlivé účinky. Mají vyšší antioxidační aktivitu než vitamín C. Anthokyany mají nejvyšší antioxidační aktivitu ze všech flavonoidů. Tato aktivita je dána přítomností hydroxylové skupiny v poloze 3 v C kruhu a acylací sacharidů aromatickými kyselinami ještě roste. Proto dokáží bránit oxidaci DNA, neenzymatické prooxidaci lipidů nebo enzymatické peroxidaci lipidů, kde fungují jako nekompetitivní inhibitory. Zmírňují zánětlivá onemocnění. Chrání krevní řečiště tím, že zabrání oxidaci cholesterolu a tím vzniku aterosklerozy. Účinné jsou i při alergických reakcích, které vyvolává serotonin či histamin. Anthokyany mají pozitivní vliv na diabetes, kde chrání mikrocévní systém před nadměrným množstvím cukru v krvi. Funkcí anthokyanu je i adaptace oka na světlo a tmu. Delfinidin, malvidin a petunidin inhibují růst rakovinných buněk.[34]

2.5.5 Metody stanovení anthokyanů

V minulosti se používala papírová chromatografie (PC) a tenkovrstvá chromatografie (TLC), ke stanovení obsahu anthokyanů. V dnešní době se využívá vysokoúčinná kapalinová chromatografie s UV detektorem, nebo spektrofotometrické metody.[34]

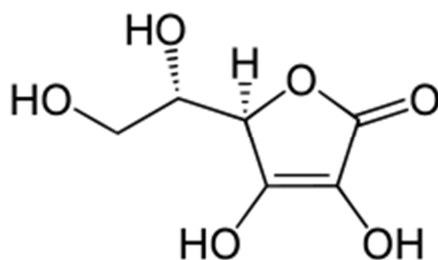
2.5.5.1 pH diferenciální metoda

Metoda je založena na změně pH. Dochází ke změně struktury a tím ke změně zbarvení anthokyanů. Tato změna se měří na spektrofotometru při vlnových délkách 510 a 700 nm. Koncentrace se vypočítá rozdílem absorbancí. Interferující látky se změnou pH svou barvu nezmění a do výpočtu se nezahrnují.[34]

2.6 VITAMÍN C

2.6.1 Chemická struktura

Velmi významnou biologickou aktivní sloučeninou je kyselina askorbová. Vitamín C má čtyři možné stereoisomery, obsahuje 2 asymetrický uhlík C4 a C5. Aktivitu vitamínu C vykazuje pouze L-askorbová kyselina (L-xylo-askorbová kyselina). Jejím isomerem je D-askorbová kyselina a druhým párem L- a D-isoaskorbová kyselina, nazývané L- a D-erythorbová kyselina, aktivitu vitamínu C nevykazují.[48]



kyselina askorbová

2.6.2 Vlastnosti vitamínu C [49]

Ve vodě rozpustný vitamín. Tělo není schopno ho uložit, musí být proto přijímán průběžně z potravy. Vitamín C se musí přijímat pro růst a obnovu tkání. Vitamín C je potřebný pro hojení ran, pro kosti a zuby. Také napomáhá tělu vstřebávat ze zdrojů železo. Je antioxidantem spolu s vitamínem E, beta – karotenem a mnoho dalšími živinami.

Kyselina askorbová je velmi nestabilním vitamínem, rozkládá se za zvýšené teploty, v přítomnosti kyslíku a rozklad katalyzují i přítomné kovy (měď).

Vážný nedostatek vitamínu C je vzácný, i když mnoho lidí může mít nízkou hladinu vitamínu C, např. kvůli kouření. Závažná forma nedostatku vitamínu C je známá jako kurděje. Nedostatek vitamínu C může způsobovat: zánět dásní, krvácení z dásní, suchá a šupinatá kůže, snížení rychlosti hojení rán, snadné modřiny, krvácení z nosu a snížení schopnosti odvrátit infekci.

2.6.3 Stanovení vitamínu C

Nejčastější metodou pro analýzu vitamínu C je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Tato metoda je selektivnější než stanovení spektrofotometrické, titrační nebo enzymatické.

Pro chromatografické stanovení je nutno vitamin C z matrice nejprve vyextrahovat. Jako extrakční činidla se volí kyseliny, komplexotvorné a redukující látky. Nízké pH silných kyselin je současně stabilizujícím prvkem pro tento vitamín. Nejčastěji se k extrakci používá kyselina šťavelová, která udržuje nízké pH a má slabé komplexotvorné vlastnosti. Z extraktu je možno také eliminovat kyslík probubláváním extraktu dusíkem. Těžké kovy se eliminují přidávkem EDTA nebo extrakcí kyseliny askorbové do organických rozpouštědel.[50]

Pro stanovení kyseliny askorbové kapalinovou chromatografií je publikována řada postupů. Nejpoužívanějšími separačními systémy jsou HPLC-RP, iontopárová, iotovýměnná chromatografie a exkluzní chromatografie. Jako stacionární fázi pro stanovení vitaminu C lze použít i tzv. aminofázi, která má vlastnosti slabého anexu. Její slabou stránkou je však častá tvorba Schiffovýchází s analytem, čímž dochází ke kvantitativní ztrátě stanovované sloučeniny. Velmi častá je v poslední době chromatografie na kolonách s hydrofilní interakcí (HILIC). Mobilní fáze pro stanovení vitaminu C jsou často složité, s více než dvěma složkami, které mohou obsahovat modifikátory nebo další činidla.[50]

Nejběžnější detekční technikou je UV-VIS detekce. Eluce vitamínu C je sledována při 254 nm resp. při 268 nm. Dalšími často používanými detekčními technikami jsou elektrochemická a hmotnostní detekce. Hmotnostní spektrometrie je nejcitlivější a nejvíce selektivní. Při stanovení kyseliny askorbové se jen zřídka využívá vnitřních standardů. Proto lze dobře stanovovat tento analyt i v komplexních maticích jako jsou potraviny.[50]

2.6.4 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Základem vysokoúčinné kapalinové chromatografie se stalo klasické kolonové provedení, které ale nemá potřebnou účinnost. Pro účinnou separaci je potřeba použít malých zrníček sorbentu. Zrníčka kladou odpor proti prostupující kapalině, proto je nutné pracovat při vysokém tlaku.[51]

2.6.5 Instrumentace

Základní instrumentace vysokoúčinné kapalinové chromatografie se skládá z čerpadla, zařízení na dávkování vzorku, kolony, detektoru a vyhodnocovacího zařízení. Jednotlivé prvky mohou svojí kvalitou ovlivnit účinnost chromatografického systému.[52]

2.6.5.1 Čerpadlo

Čerpadlo zajišťuje konstantní průtok mobilní fáze. Průtok mobilní fáze musí být plynule regulovatelný, bez pulzů, za použití pracovního tlaku minimálně 10 MPa. Součásti

čerpadla jsou zhotoveny z takových materiálů, aby nedocházelo ke kontaminaci mobilní fáze nebo ke korozi těchto částí čerpadla. Nejčastěji se používají materiály jako je nerezová ocel, keramika nebo plast.[40, 41]

Používají se čerpadla pístová, při každém pohybu pístu vpřed se vytlačí malé množství objemu mobilní fáze do chromatografického systému a při pohybu zpět se kolona naplní. Výhodou pístových čerpadel je nepřetržitá dodávka mobilní fáze a její snadná změna. Rušivé tlakové nárazy se dají omezit pomocí zdvojených čerpadel, programovým pohybem pístu a vložením tlumiče pulzů. [51, 52]

Gradientová zařízení umožňují plynule měnit složení mobilní fáze během analýzy, při konstantním průtoku. Skládají se ze dvou čerpadel, která jsou elektronicky řízená tak, aby se v časovém průběhu podílela na celkovém průtoku požadovaným podílem. Jiná zařízení používají zase elektronicky ovládaný trojcestný ventil na sání mobilní fáze. Trojcestný ventil potom přepíná sání buď jednoho, nebo druhého eluentu. Délka přepnutí řídí jejich objemový poměr. Směs je před vstupem do čerpadla dokonale rozmíchána ve směšovací komoře. Pokud se složení mobilní fáze v průběhu celé analýzy s časem nemění, jedná se o izokratickou eluci. Pro takovou eluci vystačí čerpadlo izokratické, pouze s jedním pístem.[52]

2.6.5.2 Dávkování vzorku

Pro dávkování vzorku se používá šesticestný kohout s dávkovací smyčkou. Smyčky se naplňují z mikrostříkačky přesnými objemy. Po naplnění smyčky vzorkem se kohout přepne do druhé polohy, kdy eluent protéká smyčkou a unáší vzorek do kolony. Kohout může dávkovat vzorek až do tlaku 40 MPa. Vysokoúčinné systémy vyžadují minimální objem.[52]

2.6.5.3 Kolony

Kolony jsou rovné nerezové nebo plastové trubice s délkou pohybující se mezi 1 až 25 cm. Průměr kolon se nejčastěji pohybuje od 2 do 46 mm. Vnitřní průměr musí být stejný po celé délce kolony a vnitřní povrch zcela hladký. Kolony se plní částicemi sorbentu o velikosti 1,7 až 3,5 μm .

Většina separací probíhá při laboratorní teplotě. Některé separace se výrazně zlepší zvýšením teploty. Aby bylo možno kolonu zahřívat, jsou chromatografy vybaveny kolonovými termostaty.[41]

2.6.5.4 Detektory

Podle vlastností a struktury separovaných látek, typu a složení mobilní fáze se v HPLC používají různé detektory:

- optické (fotometrický, diferenciální refraktometr a fluorimetrický)
- elektrochemické (voltametrický a vodivostní)
- hmotnostní

V novějších přístrojích se nejčastěji využívá detektor s diodovým polem. Tento spektrofotometrický přístroj umožňuje snímat celé spektrum vlnových délek v reálném čase. Jako zdroj UV záření bývá používána deuteriová lampa a pro viditelné záření wolframová lampa.

Kvantitativní analýza je možná jen pro předem známou složku. Bez jejího standardu nelze složku identifikovat ani kvantifikovat.[52]

Fotometrický detektor

Je nejvíce rozšířeným detektorem. Pro citlivost detektoru musí být zajištěna dostatečně dlouhá absorpční dráha, kterou prochází světelný paprsek. Současné fotometrické detektory dovolují nastavit různé vlnové délky pomocí monochromátoru.

Citlivost tohoto typu detekce je různá. Závisí na analytu a při zvolené vlnové délce také na velikosti molárního absorpčního koeficientu látky.[52]

Refraktometrický detektor

Refraktometrický detektor měří rozdíly mezi indexem lomu čisté mobilní fáze a eluátu. Tento detektor není příliš citlivý, ale je univerzální. Při použití refraktometrického detektoru je velmi důležité udržovat konstantní teplotu.[41]

Fluorescenční detektor

Fluorescenční detektor je založen na schopnosti látek absorbovat ultrafialové záření a pak dochází k vysílání záření o vyšší vlnové délce. Záření se měří fotonásobičem kolmo na směr vstupujícího záření. Detektor je velmi selektivní. Mez detekce 10^{-12} g.ml⁻¹. [41]

Elektrochemické detektory

Elektrochemickými detektory jsou vodivostní nebo voltametrické, které se používají tam, kde jsou v roztocích obsaženy složky oxidovatelné nebo redukovatelné na polarizovatelné elektrody.[41]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie

- Kyselina gallová, $C_7H_6O_5$ 97,5 – 102,5 % (Penta)
- Bezvodý uhličitan sodný, Na_2CO_3 (Lachema a.s.)
- Folin – Ciocalteuovo činidlo (Penta)
- Kyselina chlorovodíková, HCl 35% (Lach – ner s.r.o)
- Chlorid draselný, KCl, p.a. (Lachema)
- Trihydrát octanu sodného, $CH_3COONa \cdot 3 H_2O$, p.a. (Lachema a.s.)
- Kyselina metafosforečná, HPO_3 , 56 – 60% (VWR Prolabo chemicals)
- Dihydrogenfosforečnan draselný, KH_2PO_4 , p.a. (Lachema a.s.)
- L – askorbová kyselina, $C_6H_8O_6$ (Sigma Aldrich)

3.2 Pomůcky

- Stojan na zkumavky
- Mikrofiltry
- Filtrační papír
- Laboratorní sklo (kádinky, odměrné válce, odměrné baňky, zkumavky, hodinová sklíčka)
- Lodičky na vážení
- Büchnerova nálevka
- Odsávací baňka
- Automatické pipety
- Špičky
- Kyvety
- Injekční stříkačky

3.3 Přístroje

- Analytické váhy (Boeco, Japonsko)
- Ruční homogenizátor Ultra Turrax T18 Basic (IKA, Německo)
- Vortex TTS 2 (IKA Yellow line, Německo)
- Spektrofotometr Helios Delta (Spectronic Unicam, UK)
- pH metr (Monokrystaly Turnov, ČR)
- HPLC Agilent 1200 Infinity



Obrázek 10: spektrofotometr Helios Delta



Obrázek 11: HPLC Agilent 1200 infinity

3.4 Analyzované vzorky

Byly analyzovány vzorky moruše a zimolezu kamčatského. Obojí byly dodány ze školního statku Mendelovy university. Vzorky byly uchovávány v mrazničce při -18°C . Po rozmrazení byly odšťavněny na mechanickém odšťavňovači. Pro analýzu byl využit i odpad ze vzorku.

Dále byly analyzovány vzorky 100% pasterované šťávy ze dřínků, bezinek, šípku, rakytníku, které pocházely od firmy EkoMedica Czech, s.r.o. Vzorek 100% aronie šťávy byl od firmy Aronie z Podbeskydí. Dodavatelem vína a hroznového koncentrátu byl soukromá firma.

3.5 Stanovení celkových fenolických látek pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

3.5.1 Příprava roztoků

7,5 % uhličitan sodný

Bylo naváženo 15 g krystalického uhličitanu sodného, navážka byla rozpuštěna v destilované vodě. Poté byl roztok kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 200 ml a destilovanou vodou doplněn po rysku.

Zásobní roztok kyseliny gallové o koncentraci 1000 mg.l⁻¹

Bylo naváženo 0,025 g kyseliny gallové, navážka byla rozpuštěna v destilované vodě. Roztok byl převeden do odměrné baňky o objemu 25 ml a destilovanou vodou doplněn po rysku.

3.5.2 Příprava kalibrační křivky

Byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 12,5, 25, 50, 100 a 200 mg.l⁻¹. Do zkumavek bylo napipetováno 0,1 ml Folin-Ciocalteuova činidla, 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml jednotlivých kalibračních standardů. Poté byly zkumavky promíchány na vortexu, nechaly se 5 minut stát při laboratorní teplotě a přidal se 1 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného. Znovu byl obsah promíchán na vortexu a nechal se dvě hodiny reagovat. Po uplynutí této doby roztoky proměřeny absorbance při vlnové délce 750 nm. Všechny roztoky byly připraveny třikrát a z naměřených hodnot byly vypočteny průměry. Z těchto hodnot byla sestavena kalibrační křivka (graf 1).

3.5.3 Příprava vzorku

Po rozmražení byly zimolezy a moruše zhomogenizovány ručním homogenizátorem. Homogenizáty byly přefiltrovány přes mikrofiltr. Pro stanovení byla použita jak šťáva, tak i odpad.

Vzorky pasterovaných šťáv ze šípku, dřínu, rakytníku a bezu černého byly přefiltrovány přes mikrofiltry. Od každé šťávy byly připraveny tři vzorky a každý vzorek byl stanovován třikrát.

3.5.4 Pracovní postup

Šťávy moruší, zimolezu a víno byly zředěny 2x, šťáva z černého bezu a šípku byla zředěna 6x, rakytník a dřín byl zředěn 3x. Do zkumavek bylo napipetováno 0,1 ml Folin-Ciocalteuova činidla a k němu bylo přidáno 1,8 ml destilované vody a 0,1 ml zředěného vzorku. Zkumavky byly promíchány na vortexu a ponechány 5 minut stát. Poté byl přidán

1 ml 7,5% uhličitanu sodného a vše se znovu promíchalo na vortexu. Obsah ve zkumavkách se ponechal dvě hodiny reagovat a poté byly změřeny absorbance při vlnové délce 750 nm.

3.6 Stanovení celkových anthokyanů

3.6.1 Příprava roztoků

0,025 M roztok chloridu draselného o pH 1

Bylo naváženo 0,9012 g chloridu draselného, navážka byla rozpuštěna v 480 ml destilované vody. Následně bylo upravené pH na hodnotu 1,0 přidáním koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Roztok byl převeden do odměrné baňky o objemu 500 ml a doplněn destilovanou vodou po rysku.

0,4 M roztok octanu sodného o pH 4,5

Bylo naváženo 27,1919 g octanu sodného, navážka byla rozpuštěna ve 480 ml destilované vody. Bylo upraveno pH na hodnotu 4,5 přidáním koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Poté byl roztok převeden do odměrné baňky o objemu 500 ml a doplněn destilovanou vodou po rysku.

3.6.2 Pracovní postup pro stanovení celkových anthokyanů

U zimolezů a moruší byly stanovovány anthokyany jak ve šťávě, tak i v odpadu. Pro jeden druh ovoce bylo nachystáno 6 zkumavek. Do první trojice zkumavek bylo napipetováno 2,5 ml pufru o pH 1,0 a do dalších tří 2,5 ml pufru o pH 4,5. Dále bylo do všech zkumavek napipetováno 0,5 ml 5x zředěné šťávy zimolezu nebo moruší. Veškerý obsah ve zkumavkách byl promíchán na vortexu a proměřen na spektrofotometru při vlnových délkách 510 a 700 nm. Stejný postup, včetně pětinasobného ředění vzorku, byl aplikován i při stanovení anthokyanů v odpadu zimolezu a moruší.

Ke stanovení anthokyanů v pasterované šťávě rakytníku, šípku a dřínu byly použity šťávy neředěné, jen vzorek bezinkové šťávy byl ředěn 5krát. Do první trojice zkumavek bylo napipetováno 2,7 ml pufru o pH 1,0 a do zbylých tří zkumavek bylo napipetováno 2,7 ml pufru o pH 4,5. Do všech zkumavek bylo přidáno 0,3 ml šťávy. Zase byl obsah promíchán na vortexu a proměřen na spektrofotometru při vlnových délkách 510 a 700 nm. Jako blank byla použita destilovaná voda.

Z naměřených absorbancí se vypočítá výsledná absorbance A po dosazení do vzorce:

$$A = (A_{510\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

Koncentrace monomerního pigmentu byla vztažena na kyanidin-3-glukosid (c_{MA}) a byla vypočtena podle následujícího vzorce:

$$c_{MA} = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 1000}{\varepsilon \cdot l} (mg \cdot l^{-1})$$

kde:

A je vypočítaná výsledná absorpance

M je molekulová hmotnost anthokyanu kyanidin-3-glukosidu ($g \cdot mol^{-1}$)

F faktor ředění

E molární extinkční koeficient kyanidin-3-glukosidu ($cm^{-1} \cdot mol^{-1} \cdot l$)

L délka kyvety (cm^{-1})

Koncentrace monomerního pigmentu byla přepočítána na 100 g plodů podle následujícího vzorce:

$$c = \frac{V \cdot 0,1 \cdot c_{MA}}{m} (mg \cdot 100g^{-1})$$

kde:

V objem šťávy (ml)

m navážka plodů (g)

3.7 Stanovení vitamínu C

3.7.1 Příprava roztoků

2% kyselina metafosforečná

Bylo naváženo 34 g 57-60% kyseliny metafosforečné, navážka byla rozpuštěna ve 200 ml zahřáté destilované vody. Roztok byl převeden do 1000 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku.

Mobilní fáze

Mobilní fáze pro stanovení vitamínu C měla následující složení: roztok KH_2PO_4 : metanol v poměru 9:1 (V/V). Navážka 13,0712 g dihydrogenfosforečnanu draselného byla rozpuštěna v 900 ml destilované vody a doplněna 100 ml methanolu. Roztok byl odplyněn v ultrazvuku. Nepufrovanou mobilní fází, tvořila destilovaná voda a metanol v poměru 9:1.

Standardní roztok kyseliny askorbové

Pro přípravu zásobního standardního roztoku o koncentraci $2,5 \text{ g.l}^{-1}$ bylo naváženo 0,0253 g kyseliny L-askorbové, navážka byla rozpuštěna ve 2% kyselině metafosforečné a kvantitativně převedena do 25 ml odměrné baňky. Byla doplněna po rysku 2% kyselinou metafosforečnou.

Kalibrační roztoky

Kalibrační roztoky byly připraveny ze zásobního standardního roztoku kyseliny L-askorbové o koncentraci $2,5 \text{ g.l}^{-1}$. Byly připraveny kalibrační standardy o koncentracích 1, 10, 50 a 100 mg.l^{-1} . Do 10ml odměrných baněk bylo napipetováno 0,004, 0,04, 0,2 a 0,4 ml kyseliny L-askorbové a baňky byly doplněny 2% kyselinou metafosforečnou po rysku.

3.7.2 Pracovní postup stanovení vitamínu C

Před nástřikem byly veškeré vzorky šťáv přefiltrovány přes mikrofiltr. Rakytník a černý bez byl zředěn 10x a šťáva z šípku byla ředěna 4x, ostatní vzorky byly neředěny.

Byla použita kolona C18, 150 x 4,6 mm, $5\mu\text{m}$, s před kolonou Cartrige C18. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 1 ml.min^{-1} , objem dávkovaného vzorku na 5 μl . Teplota v termostatu kolon byla nastavena na 25°C . Eluovaný vitamín C byl sledován v UV-VIS oblasti při 254 nm. U všech vzorků byly provedeny tři nástřiky, ze získaných hodnot byl spočítán průměr.

3.8 Stanovení sacharidů

3.8.1 Příprava roztoků pro kalibrační závislost

Roztoky pro měření kalibrační závislosti tří studovaných sacharidů byly připraveny ze standardních zásobních roztoků těchto sacharidů (glukózy, fruktózy, sacharózy) o koncentraci $1,0 \text{ g.l}^{-1}$. Pracovní kalibrační standardy měly koncentrace 10, 50, 100, 200 a 500 mg.l^{-1} . Kalibrační řada byla měřena na HPLC, každý standard byl dávkován 3x a ze získaných dat byl spočítán průměr.

3.8.2 Příprava vzorků

Před nástřikem byly veškeré vzorky šťáv přefiltrovány přes mikrofiltr. Šťávy z rakytníku a šípku byly ředěny 100x, ze zimolezu, dřínu, černého bezu a moruše byly zředěny 250x, odpady z moruše a zimolezu byly ředěny 50x.

3.8.3 Pracovní postup pro stanovení sacharidů

Před nástřikem byly veškeré vzorky šťáv přefiltrovány přes mikrofiltr.

Byla použita kolona Prevail Carbohydrates ES RP-C18, 250 x 4,6 mm, 5 μm . Mobilní fází byl acetonitril a voda v poměru 75 : 25 V/V. Průtok byl nastaven na 1,25 ml.min⁻¹, objem nástřiku byl 10 μl . Teplota v termostatu kolon byla nastavena na 30°C. Eluované sacharidy byly sledovány na ELSD detektoru. U všech vzorků byly provedeny tři nástřiky, ze získaných ploch píků byl spočítán průměr

3.9 Statistické zpracování

Hodnocení hrubých chyb

Hrubé chyby ve výsledku paralelního stanovení se projeví odlehlostí této hodnoty. Pro malý soubor výsledků se používá Dean - Dixonův test. Nutností pro použití tohoto testu je výpočet rozpětí souboru:

$$R = x_{\max} - x_{\min}$$

$x_{\max}$ - nejvyšší naměřená hodnota

$x_{\min}$ - nejnižší naměřená hodnota

Dean Dixonův test:

$$Q_m = \frac{x_m - x_{m-1}}{R}$$

$$Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{R}$$

Výsledné hodnoty se porovnávají s tabelovanou kritickou hodnotou $Q_{n,\alpha}$. V případě, že $Q_m(Q_1) < Q_{n,\alpha}$, rozdíl je statisticky nevýznamný na α a výsledek není odlehlý. Pokud je $Q_m(Q_1) > Q_{n,\alpha}$, je rozdíl statisticky významný na α a výsledek je odlehlý.

Popisná statistika

Směrodatná odchylka

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Interval spolehlivosti

$$\mu = \bar{x} \pm t_{\alpha,v} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}$$

3.10 Pracovní postupy pro míchání kombinovaných nápojů

Byly připraveny celkem 3 verze kombinovaných ovocných nápojů. V nich se míchaly v různých poměrech šťávy jednotlivých ovocných druhů a bílé víno. Aby byl nápoj dostatečně sladký, byl přidáván zahuštěný hroznový mošt (RMK). Pro snížení obsahu alkoholu bylo přidáno různě vysoké procento vody.

Připravené ovocné kombinace byly vždy sensoricky hodnoceny. Počáteční připravené kombinace hodnotil jen užší kruh hodnotitelů, finální pak už dostatečný počet hodnotitelů. Přihlíželo se i k dostupnosti jednotlivých ovocných složek a k ekonomické náročnosti kombinací.

Základ první série nápojů tvořilo zpravidla bílé víno. K oslazení nápoje bylo použito malé procento zahuštěného hroznového moštu. Chuť byla vytvářena různě velkým přídatkem ovocné šťávy jen z jednoho druhu zvoleného ovoce.

Tabulka 9: Kombinované nápoje 1 (třísložkové)

Označení kombinovaného nápoje	Ovocná šťáva (%)	RMK* (%)	Víno (%)
R1 rakytník	10	5	85
R2 rakytník	15	5	80
R3 rakytník	50	10	40
Š1 šípek	15	5	80
Š2 šípek	50	10	40
D1 dřín	15	5	80
D2 dřín	50	10	40

* rektifikovaný moštový koncentrát

Druhá série nápojů byla míchána tak, že nejdříve byl vytvořen dvousložkový základ o složení 75 % vody a 25 % vína. K tomuto základu byl přidán zahuštěný hroznový mošt a poměrně malé množství šťávy z vybraného méně známého ovoce.

Tabulka 10: Kombinované nápoje 2 (čtyřsložkové)

Označení komb. nápoje	Voda (%)	Víno (%)	RMK (%)	A+B 1:1 (%)	Š+R 1:1 (%)	A+Š 1:1 (%)	100% A (%)
komb. nápoj 1	75	25	15	2,5	-	-	-
komb. nápoj 2	75	25	20	2,5	-	-	-
komb. nápoj 3	75	25	20	-	2,5	-	-
komb. nápoj 4	75	25	20	-	-	2,5	-
komb. nápoj 5	75	25	20	-	-	-	2,5
komb. nápoj 6	75	25	15	-	-	-	2,5
komb. nápoj 7	75	25	20	-	-	-	5,0

POZN.: A – aronie, B – brusinka, R – rakytník, Š - šípek

Poslední série nápojů byla pouze upřesněním vybraných kombinací z druhé série. Z této série byly v užším kruhu hodnotitelů vybrány 2 finální nápoje a ty byly před závěrečným hodnocením ještě syceny CO₂.

Tabulka 11: Kombinované nápoje 3 (čtyřsložkové)

Označení komb. nápoje	Voda (%)	Víno (%)	RMK (%)	100% A (%)	A+B 1:1 (%)	Moruše (%)
komb.1	50	30	15	5	-	-
komb.2	50	30	12	8	-	-
komb.3	50	30	15	-	5	-
komb.4	50	30	12	-	8	-
komb.5	50	30	15	-	-	5
komb.6	50	30	12	-	-	8

3.11 Senzorická analýza nápojů

Senzorické hodnocení probíhalo v senzorické laboratoři. Jako hodnotitelé byli zvoleni studenti prvního ročníku bakalářského studia, protože cílovou skupinou měli být velmi mladí lidé. Hodnotitelům byly podány dva finální vzorky kombinovaných nápojů, každý o objemu 5 ml. Nápoje byly označeny KN1 a KN2. Ke vzorkům dostali hodnotitelé formulář pro hodnocení nápojů, který je uveden v příloze této diplomové práce. Hodnotil se vzhled, vůně, pocit osvěžení a celkový chuťový vjem nápoje.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

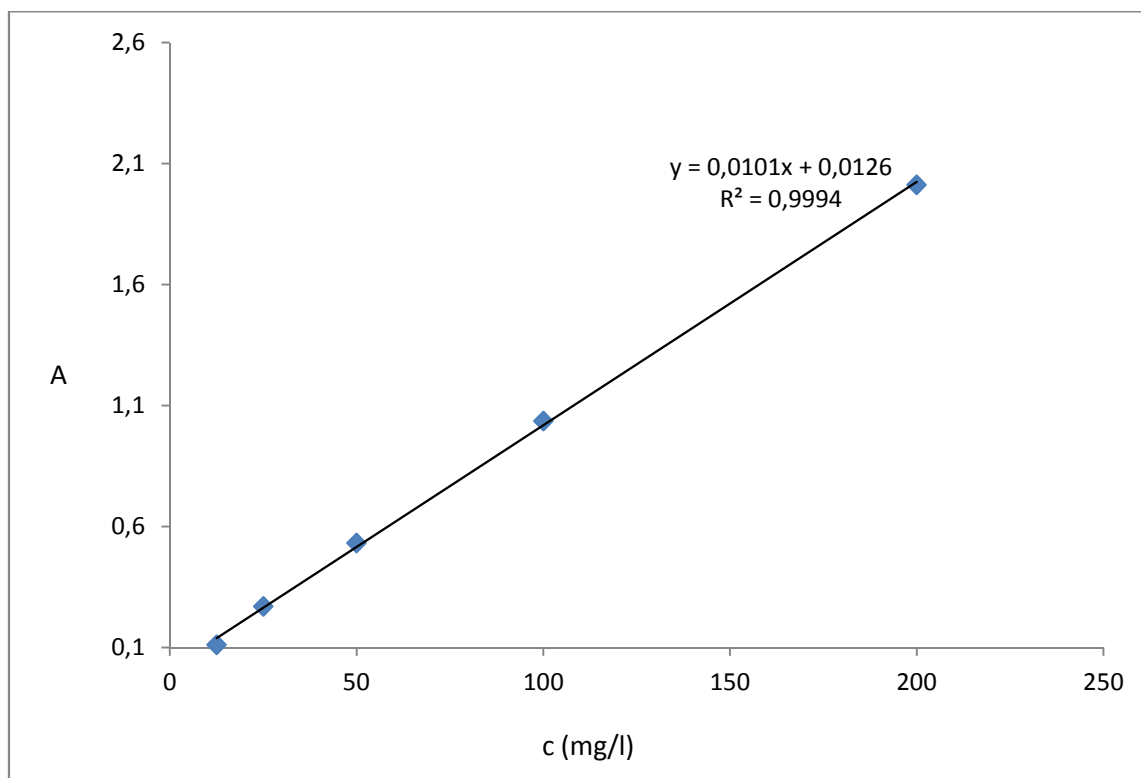
4.1 Stanovení vybraných chemických vlastností použitých ovocných šťáv

Nejprve byly analyzovány vybrané chemické vlastnosti šťáv (celkové fenolické látky, celkové anthokyany, vitamín C, sacharidy). Byly zvoleny takové šťávy, které byly připraveny z méně obvyklých druhů ovoce, které připadaly v úvahu pro přípravu nápojů a u nichž byl předpoklad vysokého obsahu biologicky účinných látek.

4.1.1 Stanovení celkových fenolických látek

Fenolické látky byly stanoveny spektrofotometricky po redukci Folin-Ciocalteuova činidla. Přesný postup stanovení je uveden v kapitole 3.5. Koncentrace kyseliny gallové byly vypočítány z kalibrační křivky a výsledky byly uvedeny v tabulce v miligramech na 100 g vzorku.

Následující graf ukazuje pětibodovou kalibrační závislost kyseliny gallové a udává regresní rovnici. Její korelační koeficient svědčí o vysoké linearitě závislosti.



Graf 1: Kalibrační křivka kyseliny gallové

Tabulka 12: Obsah celkových fenolických látek ve vybraném ovoci

Odrůda	Průměrná koncentrace celkových fenolických látek [mg·100 g⁻¹]
Aronie	1918,15 ± 62,27
Šípek	285,39 ± 9,36
Bez černý	239,84 ± 13,64
Rakytník	205,66 ± 2,87
Dřín	169,92 ± 0,32
Moruše šťáva	39,36 ± 0,45
Zimolez šťáva	23,53 ± 3,57
Moruše odpad	23,90 ± 0,53
Zimolez odpad	5,23 ± 0,93

Nejvyšší obsah fenolických látek byl stanoven ve šťávě z aronie, v šípkové šťávě a ve šťávě bezinkové. Naproti tomu moruše i zimolez obsahovaly jak ve šťávě, tak i v odpadu prakticky nevýznamné množství fenolů.

4.1.2 Stanovení celkových anthokyanů

Celkové anthokyany byly stanoveny spektrofotometricky pH diferenciální metodou. Přesný postup stanovení je uveden v kapitole 3.6. Koncentrace byly vypočteny podle vzorců uvedených v téže kapitole. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 13, koncentrace jsou v miligramech na 100 gramů vzorku.

Tabulka 13: Obsah celkových anthokyanů ve vybraném ovoci

Odrůda	Průměrná koncentrace [mg·100 g ⁻¹]
Aronie	3,63 ± 0,00
Bez černý	2,53 ± 0,00
Zimolez šťáva	0,62 ± 0,00
Zimolez odpad	0,27 ± 0,05
Moruše šťáva	0,16 ± 0,01
Moruše odpad	0,04 ± 0,00
Dřín	0,02 ± 0,00
Rakytník	0,00 ± 0,00
Šípek	0,00 ± 0,00

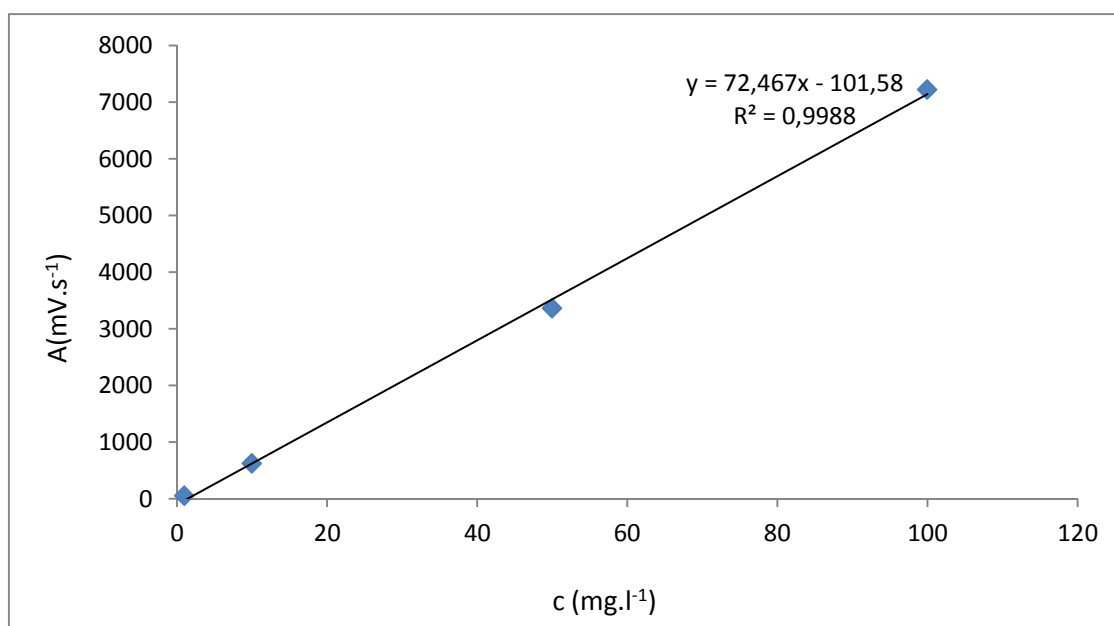
Nejvyšší obsah anthokyanových pigmentů byl stanoven ve šťávě z aronie a v bezinkové šťávě. Šťávy z ostatního ovoce obsahovaly těchto barviv o jeden řád méně. V šípkové a v rakytníkové šťávě nebyl výskyt anthokyanových barviv prokázán vůbec. Tyto plody obsahují karotenoidní barviva.

4.1.3 Stanovení vitamínu C

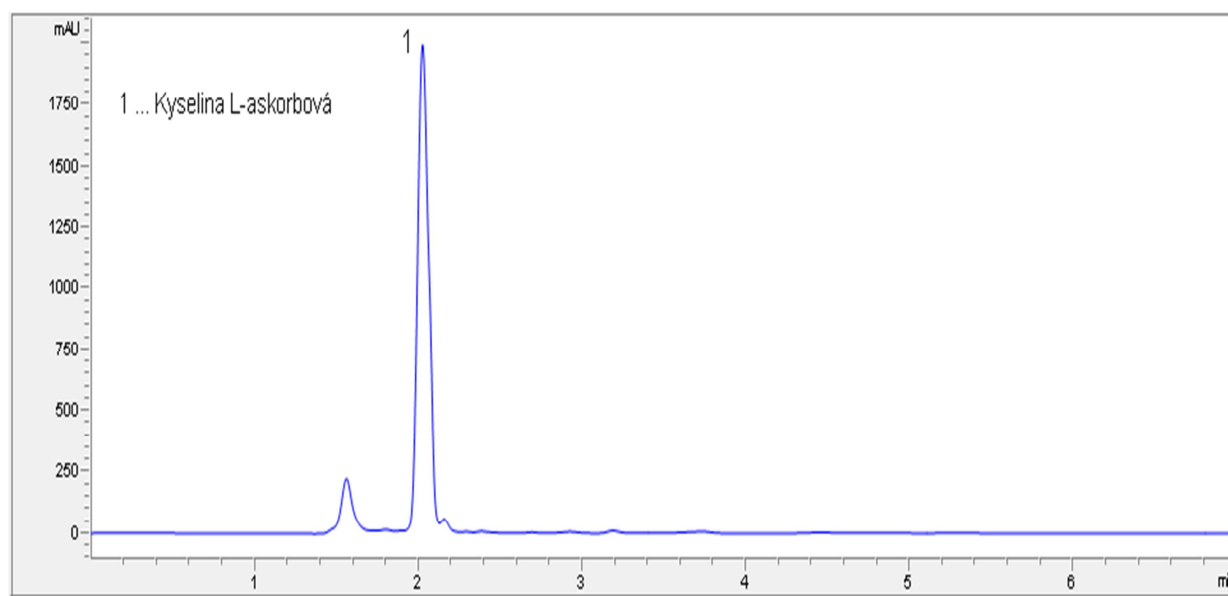
Přesný postup stanovení vitamínu C kapalinovou chromatografií v ovocných šťávách je uveden v kapitole 3.7. Analýza standardů byla ukončena po 4 minutách a reálných vzorků po 8 minutách. Eluční čas vitamínu C byl 2 min.

Z ploch píků byl pomocí regrese kalibrační křivky vypočítán obsah kyseliny askorbové a dále byl přepočítán na množství ve 100 g vzorku.

Na následujícím grafu je uvedena kalibrační závislost kyseliny askorbové a regresní rovnice. Její korelační koeficient je přijatelný. Na grafu č. 3 je zobrazen ukázkový chromatogram jednoho z kalibračních roztoků kyseliny askorbové.



Graf 2: Kalibrační křivka kyseliny L-askorbové



Graf 3: Chromatogram kyseliny L-askorbové

Tabulka 14: Stanovený obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce

Odrůda	Průměrná koncentrace vitamínu C[mg·100 g ⁻¹]
Rakytník	151,09 ± 2,57
Šípek	142,37 ± 6,30
Aronie	92,51 ± 0,69
Bez černý	57,05 ± 1,53
Zimolez šťáva	47,77 ± 2,14
Dřín	43,45 ± 1,47
Moruše šťáva	34,23 ± 0,55
Moruše odpad	30,91 ± 0,27
Zimolez odpad	28,03 ± 0,00

Z uvedené tabulky je zřejmé, že nejlepším zdrojem vitamínu C jsou rakytníková, šípková a aróniová šťáva.

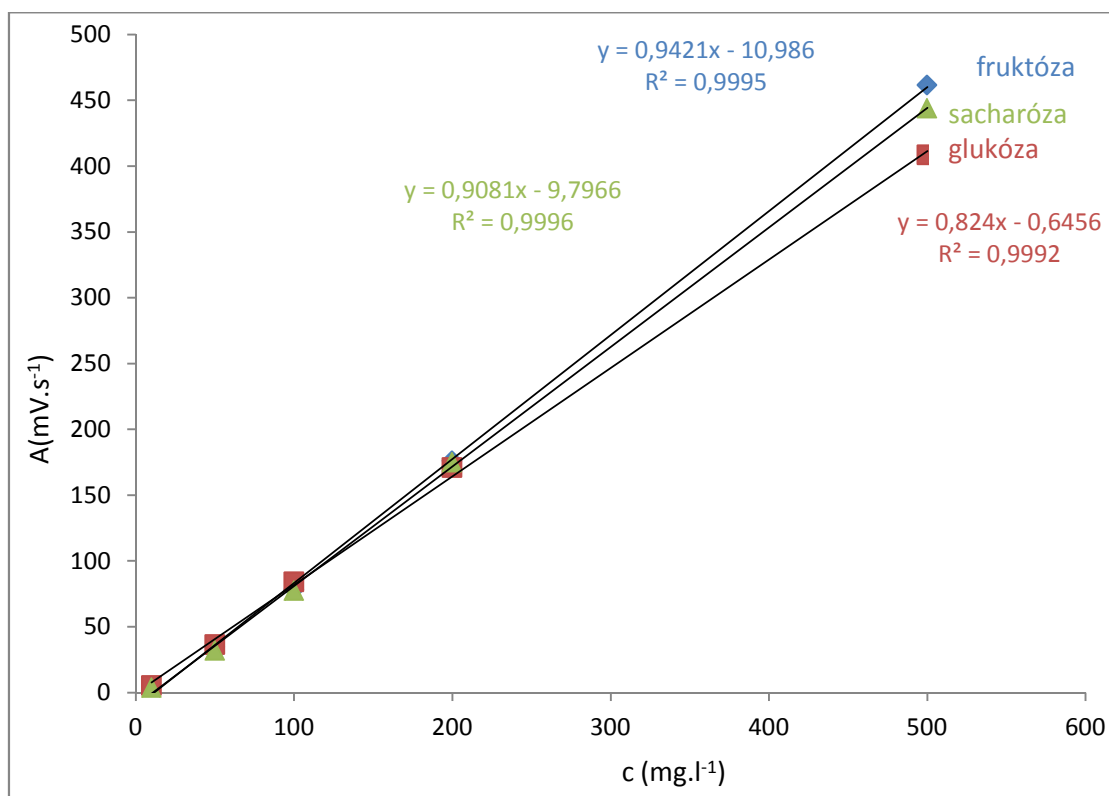
4.1.4 Stanovení sacharidů

Významnou chuťovou složkou každého ovoce jsou sacharidy. Na jejich množství do značné míry závisí obliba ovoce u spotřebitelů, neboť lidé vesměs dávají přednost ovoci velmi sladkému. Proto byla ve šťávách stanovena i glukóza, fruktóza a sacharóza.

Tyto cukry byly stanoveny kapalinovou chromatografií. Přesný postup stanovení je uveden v kapitole 3.8. Eluční čas fruktózy byl 5,5 min., glukózy 6,8 min. a sacharózy 9,0 min.

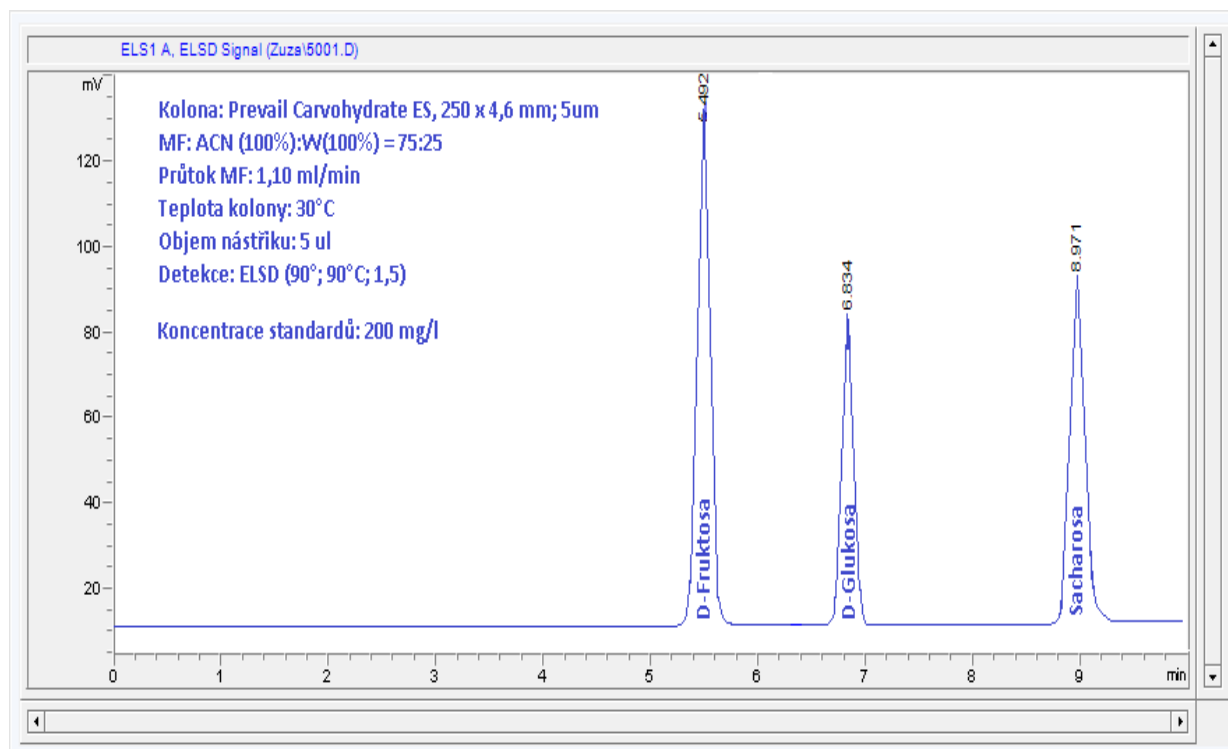
Z ploch píků byly pomocí regrese kalibrační křivky vypočítány koncentrace jednotlivých sacharidů a pak byly přepočítány na 100 g vzorku. Byla sečtena také celková suma sacharidů v každém ovoci.

Na následujícím grafu jsou uvedeny pětibodové kalibrační závislosti měřených sacharidů a jejich regresní rovnice. Všechny korelační koeficienty svědčí o vysoké linearitě závislostí.



Graf 4: Kalibrační křivky sacharózy, glukózy a fruktózy

Graf č. 5 zobrazuje ukázkový chromatogram jednoho ze směsných kalibračních roztoků testovaných sacharidů.



Graf 5: Chromatogram standardů sacharózy, glukózy a fruktózy

Podle výsledků uvedených v následující tabulce 15 je nejsladší šťáva dřínová, která obsahuje 186,34 mg sacharidů ve 100 g. Takovou šťávu by bylo možno kombinovat se šťávou s převahou kyselin. Obdobně by bylo možno zkombinovat i šťávy morušovou a bezinkovou, které také obsahují značné množství sacharidů.

Tabulka 15: Sacharidy ve šťávách vybraného ovoce

Odrůda	[mg·100g ⁻¹]			Celkem sacharidy
	fruktóza	glukóza	sacharóza	[mg·100g ⁻¹]
Zimolez šťáva	25,55±1,21	20,52±1,50	6,32±0,62	52,39
Zimolez odpad	13,23±0,02	12,60±0,22	0,54±0,00	26,37
Moruše šťáva	72,33±2,62	64,20±1,98	2,70±0,00	139,20
Moruše odpad	16,97±0,13	15,23±0,21	0,54±0,00	32,74
Rakytník	23,47±0,83	31,52±0,95	1,08±0,00	56,07
Bez černý	101,82±5,03	67,13±3,64	2,70±0,00	171,65
Dřín	75,33±2,50	105,28±5,34	5,73±0,46	186,34
Šípek	25,25±0,98	18,69±0,61	1,08±0,00	45,02
Aronie	52,22±0,79	0,08±0,00	1,08±0,00	53,38

4.2 Kombinované nápoje

První série nápojů byla tvořena jen třemi složkami a byla připravena podle tabulky 9 v kapitole 3.10. Všechny nápoje měly velmi jemnou chuť a některé byly mírně zakalené. Jejich největší nevýhodou však byla předpokládaná vysoká cena, kterou by většina zákazníků cílené spotřebitelské skupiny nebyla schopna akceptovat.

Druhá série nápojů byla míchána podle tabulky 10 v kapitole 3.10. Nejdříve byly smíchány 2 základní složky v poměru 3 ku 1. Tak byl vytvořen přiměřeně intenzivní chuťový základ. K němu byly přidávány další 2 složky, aby bylo dosaženo výraznější chuti.

V poslední sérii míchání nápojů byla především posílena nejsladší složka kombinací. Z této série byly v užším kruhu hodnotitelů vybrány 2 finální nápoje s nejvyšším hodnocením. Tyto finální nápoje byly označeny jako KN1 a KN2 a pro zvýšení efektu osvěžení byly ještě

nasyceny CO₂. Potom byly předloženy k sensorickému hodnocení poučených laických hodnotitelů.

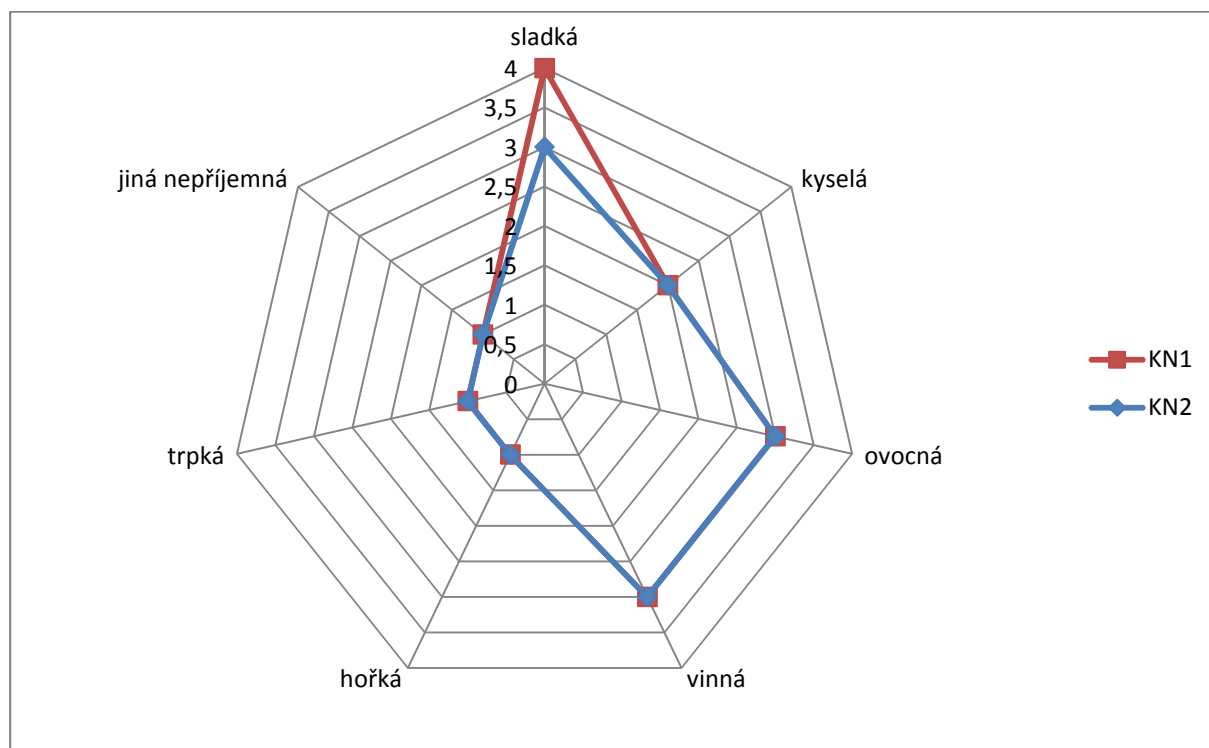
Šťáva bezinková byla zcela vyloučena, protože vždy udělovala kombinovaným nápojům typické dobře identifikovatelné aroma, které však nebylo hodnotiteli příznivě přijímáno.

4.2.1 Sensorické vyhodnocení kombinovaných nápojů

Kombinované nápoje hodnotilo 33 hodnotitelů, jednalo se především o ženy, nekuřáčky, které pijí alkohol příležitostně. Hodnotitelé byli ve věku do 20 let, ale všichni plnoletí.

4.2.1.1 Hodnocení chuti

Hodnotitelé ohodnotili a vytvořili intenzivní profil vybraných chutí (sladká, kyselá, ovocná, vinná, hořká, trpká a jiná nepříjemná) předložených KN 1 a KN 2. Posuzovali míru uvedené chutě podle stupnice: 1 – nepostřehnutelná, 2 – slabá, 3 – průměrná, 4 – silná, 5 – velmi silná.

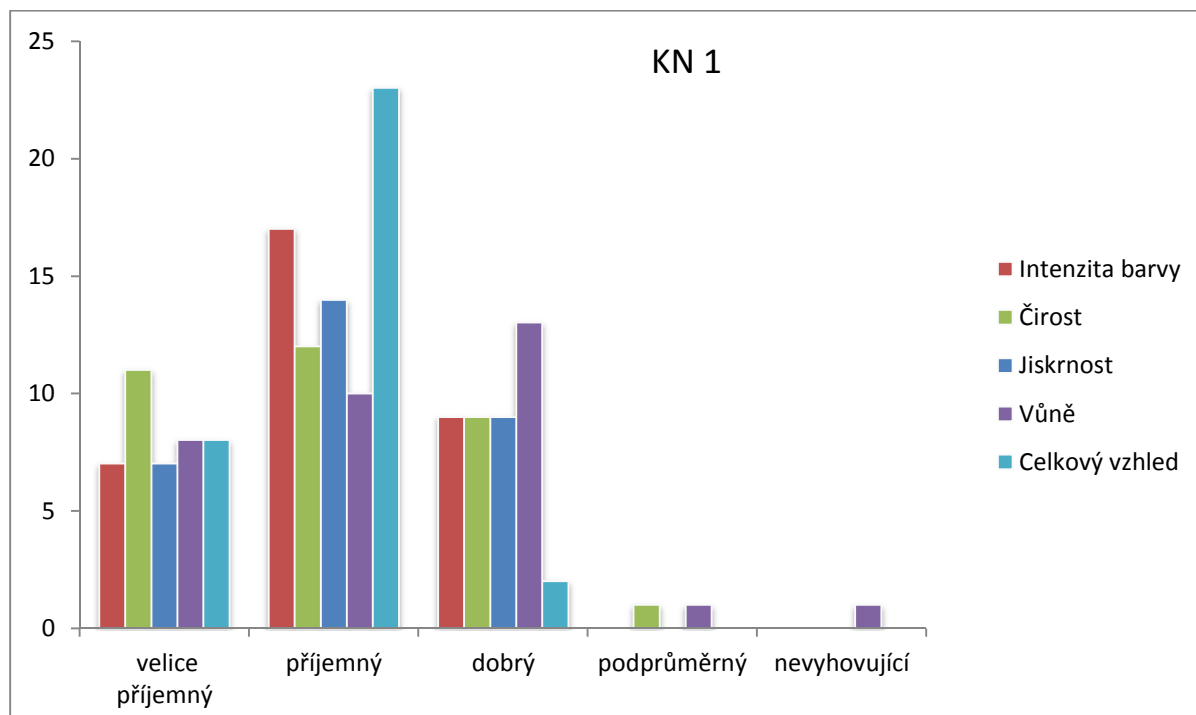


Graf 6: Diagram profilu chutí

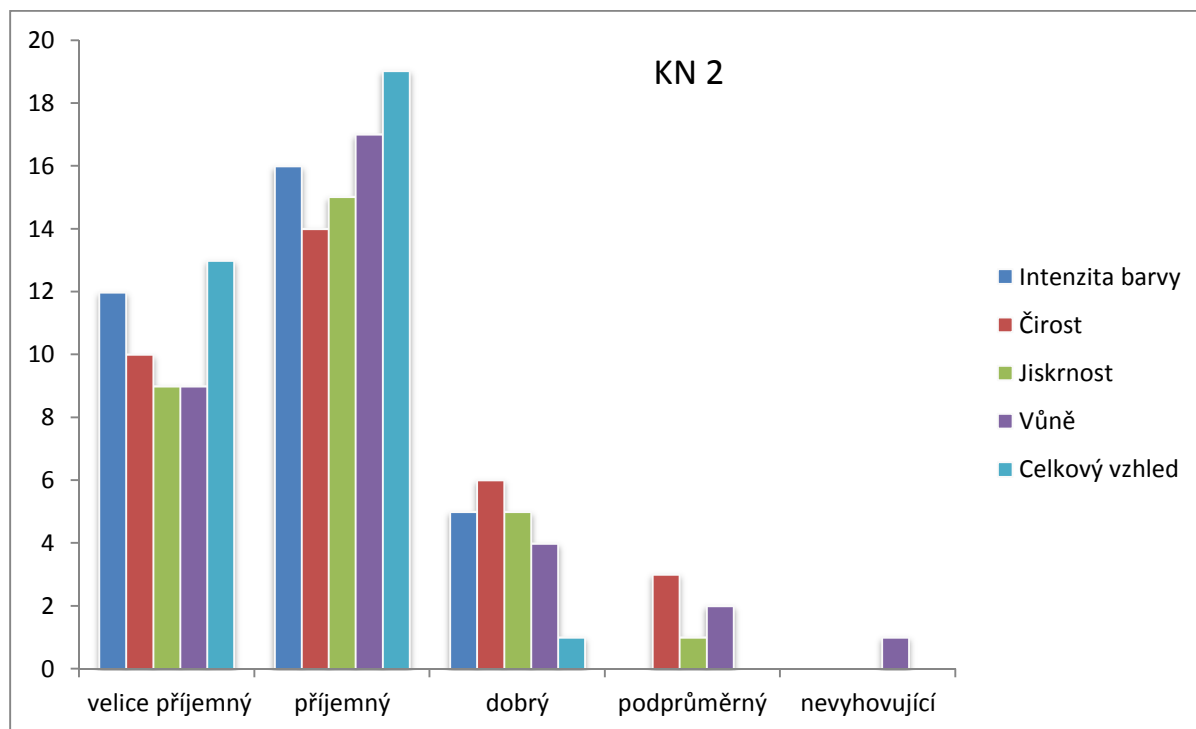
Diagram ukazuje, že u vzorku KN 1 byla vyhodnocena sladká chuť jako silnější. U obou vzorků je ovocná a vinná chuť průměrná.

4.2.1.2 Hodnocení vzhledu a vůně

Hodnotitelé měli za úkol ohodnotit vzhled a vůni kombinovaných nápojů. Posuzovali podle stupnice: 1 – velice příjemný, 2 – příjemný, 3 – dobrý, 4 – podprůměrný, 5 – nevyhovující.



Graf 7: Hodnocení vzhledu a vůně u KN 1

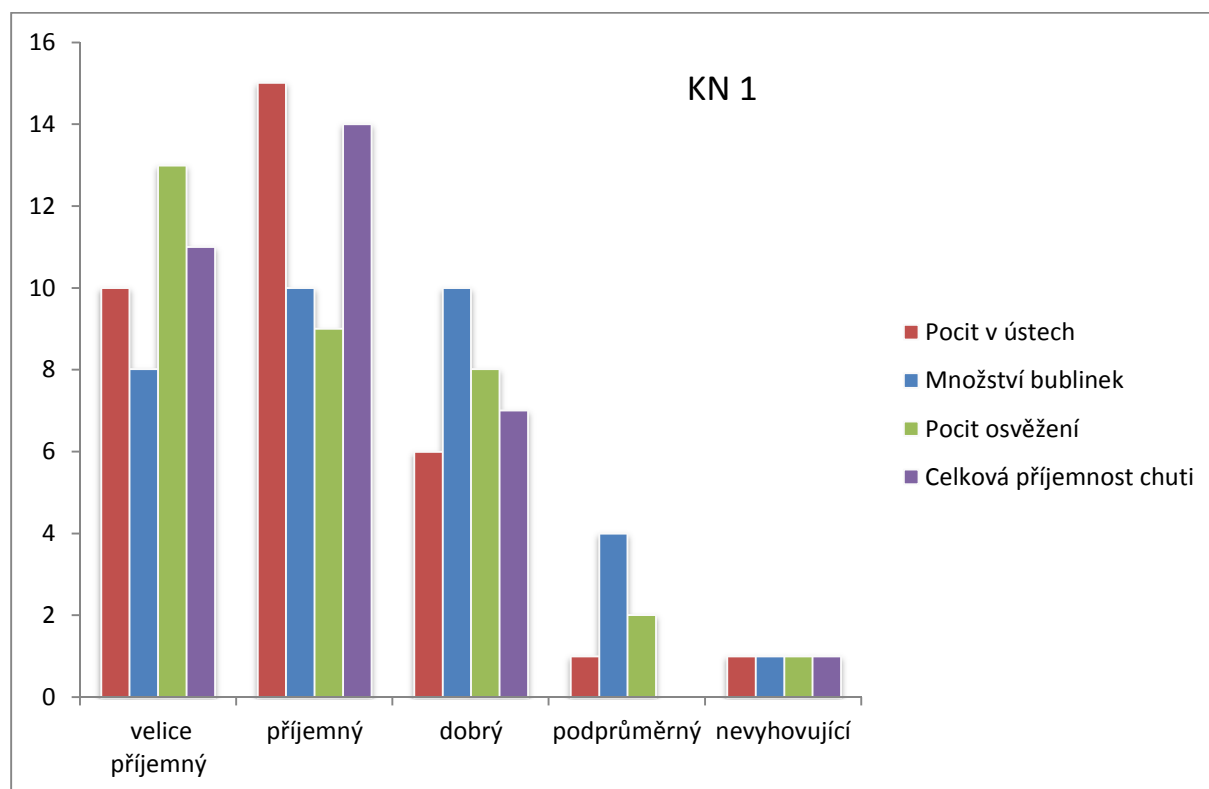


Graf 8: Hodnocení vzhledu a vůně u KN 2

Graf č.7 značí, že celkový vzhled KN1 je příjemný a vůně je optimální. Podle grafu č. 8 je celkový vzhled a vůně KN 2 příjemný.

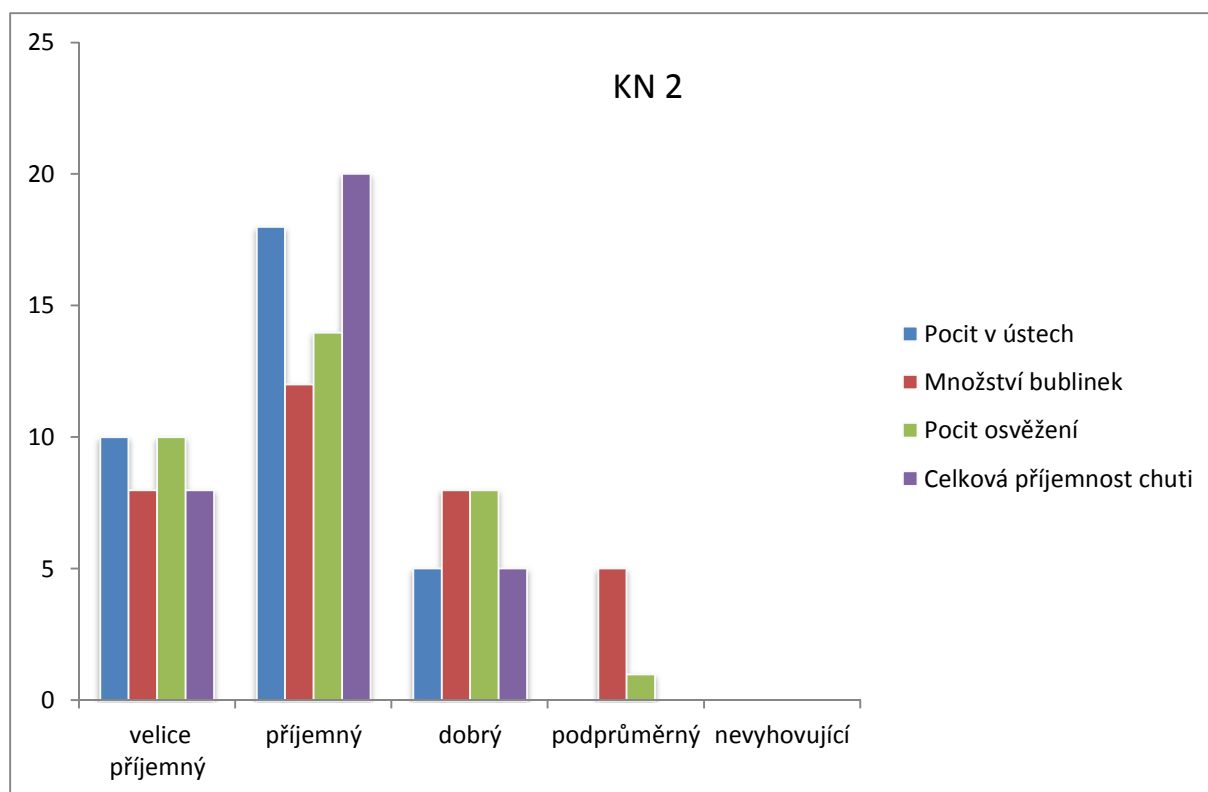
4.2.1.3 Hodnocení pocitu osvěžení

Hodnotitelé měli za úkol ohodnotit, zda nápoj vyvolává pocit osvěžení, zda obsahuje přiměřené množství bublinek. Posuzovali podle stupnice: 1 – velice příjemný, 2 – příjemný, 3 – dobrý, 4 – podprůměrný, 5 – nevyhovující.



Graf 9: Hodnocení pocitu osvěžení u nápoje KN 1

Při hodnocení této vlastnosti u nápoje KN 1 bylo zjištěno, že pocit v ústech byl většinou hodnocen jako příjemný nebo velice příjemný. Celková chuť byla hodnocena převážně také příjemná nebo velice příjemná. Co se týče pocitu osvěžení, byl tento parametr u nápoje KN1 shledán jako velice příjemný.

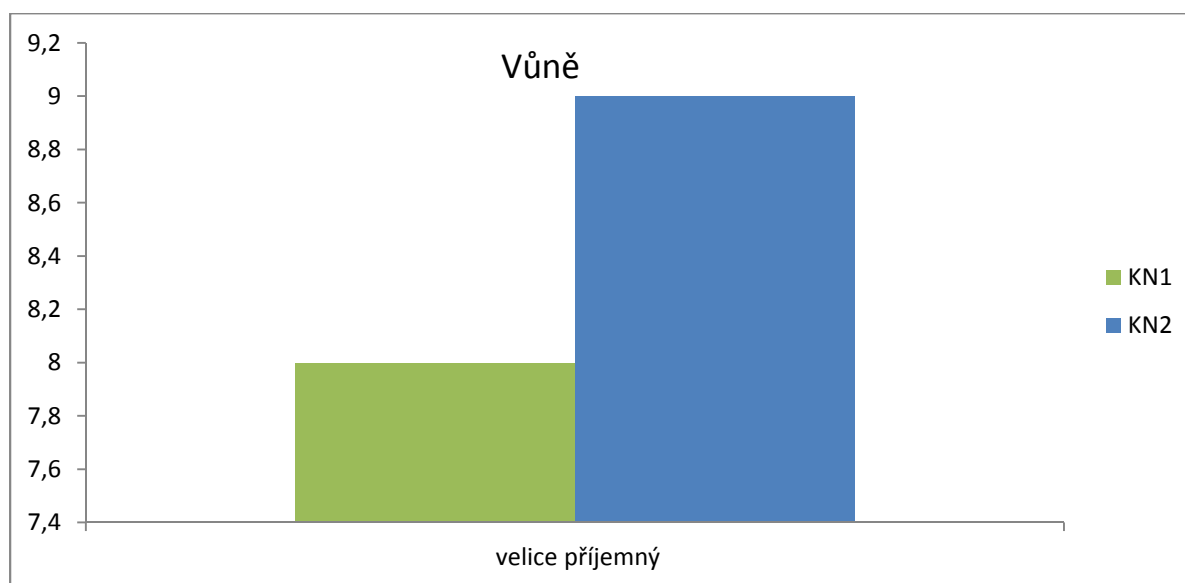


Graf 10: Hodnocení perlivosti a pocitu osvěžení nápoje u KN 2

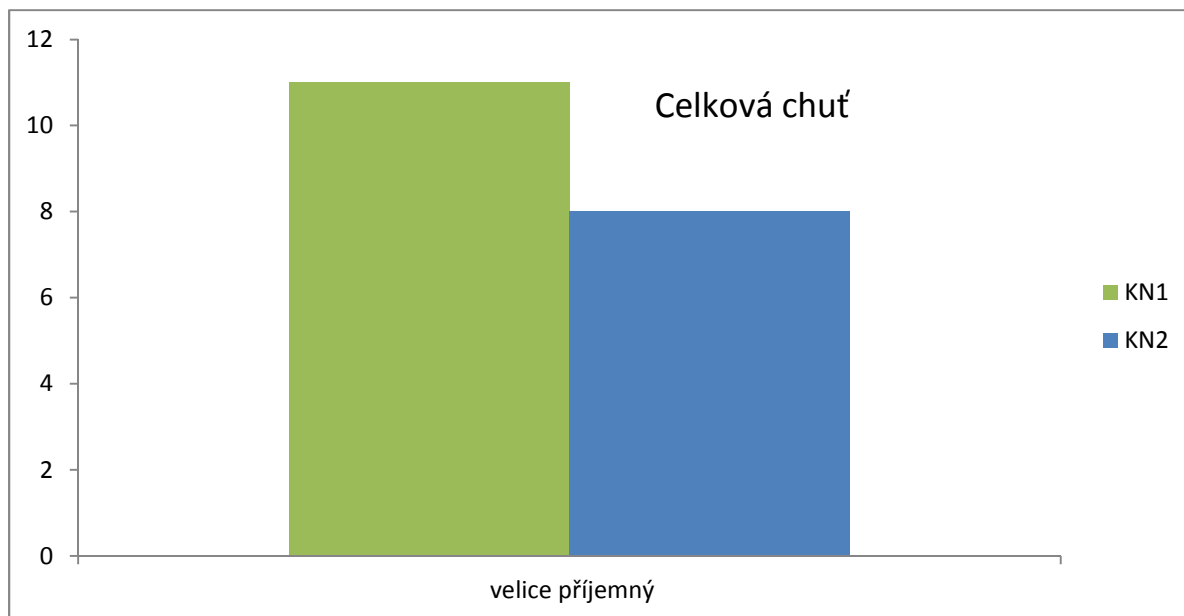
Z grafu č. 10 u KN 2 bylo zjištěno, že perlivost nápoje je ve všech aspektech příjemná.

4.2.1.4 Srovnání vůně, celkové chuti a barvy u KN 1 a KN 2

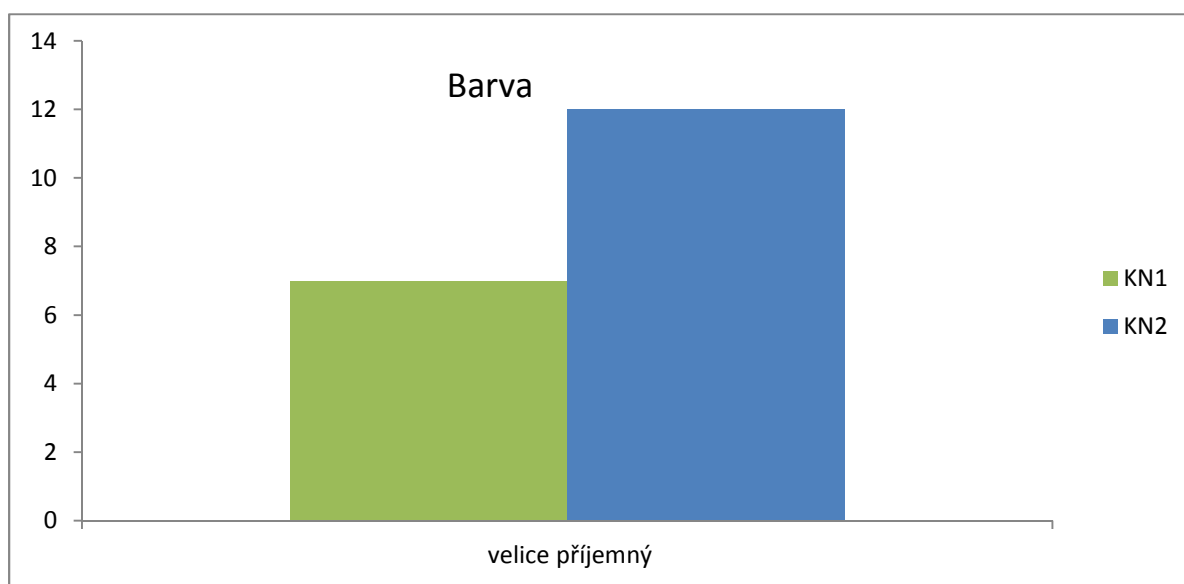
Oba kombinované nápoje pak byly vzájemně porovnány ve vlastnostech vůně, chuť a barva. Toto srovnání ukazují následující 3 grafy.



Graf 11: Srovnání vůně u nápojů KN 1 a KN 2



Graf 12: Srovnání celkové chuti u nápojů KN 1 a KN 2

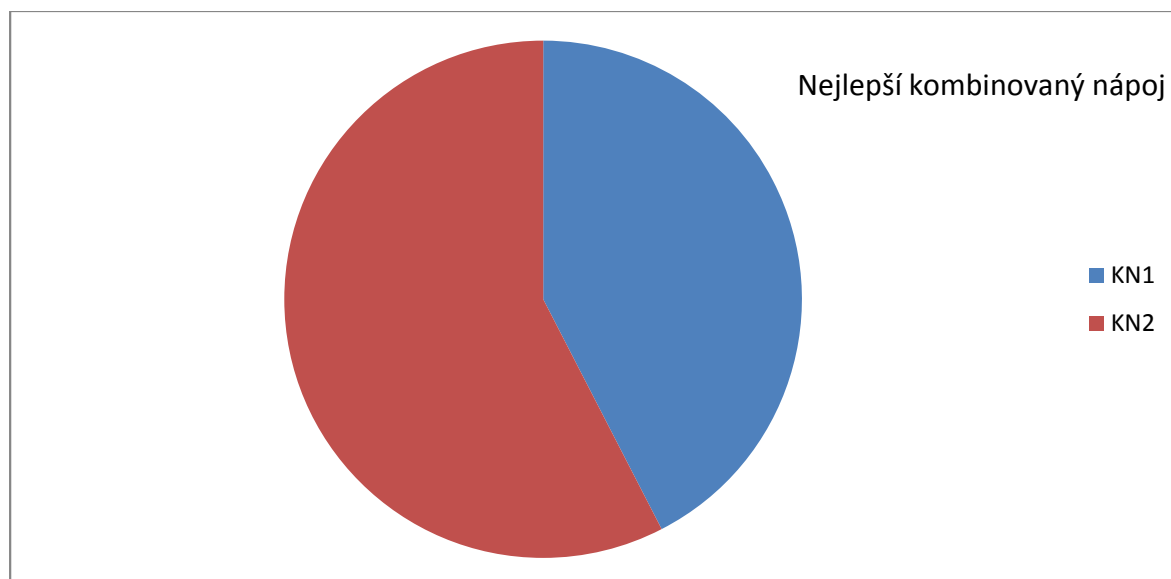


Graf 13: Srovnání barvy u nápojů KN 1 a KN 2

Z grafů vyplývá, že barva a vůně je lepší u KN 2, ale celková chuť byla hodnocena jako nejlepší u KN 1.

4.2.1.5 Hodnocení předložených nápojů

Hodnotitelé měli za úkol se rozhodnout, který z předložených nápojů je lepší.



Graf 14: Nejlepší KN

Graf poukazuje na to, že 58 % hodnotitelů rozhodlo, že nápoj KN 2 je celkově lepší.

4.2.2 Chemické vlastnosti dvou favorizovaných kombinovaných nápojů

Po senzoričtém vyhodnocení byly u nápojů KN1 a KN2 stanoveny tytéž základní parametry jako u samotných výchozích šťáv. Nalezené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 16.

Tabulka 16: Chemické vlastnosti KN 1 a KN 2

	KN1 [mg·100 g ⁻¹]			KN2 [mg·100 g ⁻¹]		
Fenolické látky	181,58 ± 2,74			243,30 ± 6,49		
Anthokyany	0,22 ± 0,01			0,31 ± 0,01		
Vitamín C	24,61 ± 0,45			24,39 ± 0,57		
Sacharidy	glukóza	fruktóza	sacharóza	glukóza	fruktóza	sacharóza
	29,15±1,25	41,40±0,46	1,08±0,00	28,76±1,10	32,46±0,48	1,08±0,00
Sacharidy celkem	71,63			62,30		

Z tabulky č. 16 vyplývá, že nápoj KN1 obsahuje větší množství cukerné složky a nápoj KN2 zase více biologicky aktivních látek.

5 ZÁVĚR

Byly stanoveny základní chemické parametry vybraných ovocných šťáv (celkové fenolické látky, anthokyaniny, vitamín C, sacharidy). Největší obsah celkových fenolických látek mají aronie $1918 \pm 62,27 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, ty také mají největší obsah anthokyanů $3,63 \pm 0,00 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Anthokyaniny nejsou obsaženy v rakytníku a v šípku. Nejbohatší na vitamín C je rakytník $151,09 \pm 2,57 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, velké množství má i šípek $142,37 \pm 6,30 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Velký obsah glukózy má dřín $105,28 \pm 5,34 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, fruktózu obsahuje bez černý $101,82 \pm 5,03 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a sacharózu šťáva ze zimolezu $6,32 \pm 0,62 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Teoretická část diplomové práce popisuje jednotlivé druhy ovoce (zimolez, moruše, dřín, šípek, černý bez, rakytník a aronie), ze kterých byly připraveny šťávy. U stejných šťáv byly pak stanoveny vybrané chemické parametry (celkové fenolické látky, anthokyaniny, vitamín C, sacharidy).

Největší obsah celkových fenolických látek má šťáva aronie $1918 \pm 62,27 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. V té byl také nalezen největší obsah anthokyanů $3,63 \pm 0,00 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Anthokyaniny nejsou obsaženy v rakytníkové a šípkové šťávě. Šípky i rakytník obsahují karotenoidní barviva.

Nejbohatší na vitamín C je rakytník $151,09 \pm 2,57 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, velké množství má i šípek $142,37 \pm 6,30 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Velký obsah glukózy má dřínová šťáva $105,28 \pm 5,34 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, nejvíce fruktózy obsahuje bez černý $101,82 \pm 5,03 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a sacharózy šťáva ze zimolezu $6,32 \pm 0,62 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Z vybraných šťáv byly namíchány 3 série kombinovaných nápojů. V první sérii byly kombinovány jen 3 složky. Nevýhodou těchto nápojů byl mírný zákal u většiny z nich a předpokládaná vysoká cena, kterou by většina zákazníků cílené spotřebitelské skupiny nebyla schopna akceptovat.

Druhá série nápojů byla míchána zcela jiným způsobem a byla tvořena vždy čtyřmi složkami. Nejdříve byly smíchány 2 základní složky v poměru 3 : 1. K tomuto chuťovému základu byly přidávány další 2 složky, aby bylo dosaženo intenzivní chuti.

V poslední sérii míchání nápojů byla především posílena nejsladší složka kombinací. Z této série byly v užším kruhu hodnotitelů vybrány 2 finální nápoje s nejvyšším hodnocením,

byly označeny jako KN1 a KN2 a byly předloženy k senzorickému hodnocení většímu počtu hodnotitelů.

Finální dva nápoje byly senzoricky ohodnoceny vybranou skupinou hodnotitelů. Skupina ohodnotila jako nejlepší nápoj KN2, který byl méně sladký a měl více biologicky aktivních látek. V odpovědích na otázku, proč vybrali nápoj KN2, se shodli na tom, že nápoj má příjemnou chuť, barvu i příjemnější vůni.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] KUBÍNOVÁ, M., *Kvalitní zhodnocení sklizně vybraných odrůd kamčatských borůvek* [online]. Brno 2006. Vedoucí diplomové prof. Ing. Vojtěch Řezníček, CSc. [cit. 2016-02-03]. Dostupné z: [file:///C:/Users/Mirka/Downloads/zaverecna_prace%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Mirka/Downloads/zaverecna_prace%20(2).pdf)
- [2] VESELÝ, O., *Srovnání plodů některých odrůd zimolezů z hlediska obsahu vybraných biologicky aktivních* [online]. Vysoké učení technické v Brně, 2015. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, PhD. [cit. 2016-02-03]. Dostupné z: <https://dspace.vutbr.cz/bitstream/handle/11012/38302/Diplomov%C3%A1%20pr%C3%A1ce.pdf?sequence=1>
- [3] Dostupné z: <http://www.garten.cz/a/cz/6503-lonicera-zimolez/>
- [4] Dostupné z: <http://zahrada.bydleniprokazdeho.cz/zahrada/zimolez-kamcatsky-a-muchovník-oblibene-alternativy-borůvek.php>
- [5] Dostupné z: <http://www.neoseeds.cz/cz/e-shop/941324/c16649-ovoce/morus-nigra-morusovník-cerný-spanada-obsahuje-12-semen-span.html>
- [6] KANIOVÁ, L., *Srovnání vybraných nutričních parametrů plodů méně známého drobného ovoce* [online]. Vysoké učení technické v Brně, 2013. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, PhD. [cit. 2016-03-10]. Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=63353
- [7] ÖZGEN, M., SERCE S., KAYA C., *Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich Morus nigra and Morus rubra fruits* [online]. 2008 Elsevier. [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423808003403>
- [8] ERCISLI, S., ORHAN E., *Chemical composition of white (Morus alba), red (Morus rubra) and black (Morus nigra) mulberry fruits* [online]. 2006 Elsevier. [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606008387>
- [9] HESSAYON, D., *Ovoce v zahradě*. Vyd. 1. Praha: Ševčík, 1999. *Expert (Beta-Dobrovský)*. ISBN 80-86278-29-8,
- [10] DLOUHÁ, J., VALÍČEK P., RICHTER M., *Ovoce*. 1. čes. vyd. Ilustrace Petr Liška. Praha: Aventinum, 1997. Krystal (Aventinum). ISBN 80-7151-768-2

- [11] BÖHM Č., *Okrasná zahrada a její rostliny*. Statní zemědělské nakladatelství Praha, 1988. ISBN 07-106-88
- [12] ŠROT, Radoslav. *Ovoce*. Vyd. 1. Praha: Aventinum, 1998. Rady pro chovatele a pěstitele. ISBN 80-7151-049-1.
- [13] Dostupné z: <http://www.plnazahrada.cz/karta-drin.php>
- [14] [cit. 2016-02-10] Dostupné z:
is.mendelu.cz/zp/portal_zp.pl?prehled=vyhledavani;podrobnosti...1
- [15] JURÁŇOVÁ, J., *Stanovení vybraných nutričních faktorů v některých druzích miboritního ovoce* [online]. Vysoké učení technické v Brně, 2012 [cit. 2015-11-16].
Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=61456
- [16] [cit. 2016-02-15] Dostupné z:
http://www.terezia.eu/cz/clanek/rakytник_resetlakovy_rostlina_budoucnosti
- [17] SUS, J., *365 dnů s ovocem: nové rady pro pěstitele*. 1. vyd. Líbeznice: Víkend, 2001. Rady z první ruky. ISBN 80-7222-147-7.
- [18] RICHTÁROVÁ, E., *Léčivá moc ovoce a zeleniny*. Nakladatelství: Pali, 2015. ISBN 978-80-87389-34-8.
- [19] [cit. 2016-02-10] Dostupné z:
is.mendelu.cz/zp/portal_zp.pl?prehled=vyhledavani;podrobnosti...1
- [20] ZÁMORSKÁ V., *Základní chemická charakteristika šťávy z aronie* [online]. Vysoké učení technické v Brně, 2015. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, PhD.
[cit. 2016-03-16]. Dostupné z:
<https://dspace.vutbr.cz/xmlui/bitstream/handle/11012/39040/BP%20Z%C3%A1morsk%C3%A1%20Vendula.pdf?sequence=1>
- [21] JANTRA, H., *Ovocná zahrada*. Ostrava: Blesk, 1996. ISBN 80-85606-74-7.
- [22] Dostupné z: http://www.prvnikrok.cz/www_old/detail-clanek.php?clanek=1282
- [23] PÍŠŤKOVÁ, M., *Obsah rutinu ve vybraných odrůdách bezu černého* [online]. Brno 2011 [cit. 2016-02-05]. Dostupné z:
https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=36882

- [24] SCHÖNFELDER, I., SCHÖNFELDER, P., *Léčivé rostliny*. Překlad Jana Jindrová. Praha: Ottovo nakladatelství, 2010. Ottův průvodce přírodou. ISBN 978-80-7360-588-9.
- [25] Dostupné z: <http://mtbushcraft.webnode.cz/news/ruze-sipkova/>
- [26] [cit. 2016-04-25] Dostupné z: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id39740/>
- [27] Dostupné z: http://botanika.borec.cz/ruze_sipkova.php
- [28] Dostupné z: <http://www.zdravie.sk/clanok/54315/aronia-spomaluje-starnutie-a-pomaha-pri-hnacke>
- [29] Kadlec P., Melzoch K., Voldřich M. a kolektiv, *Technologie potravin, Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. Vysoká škola Chemicko – Technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie. ISBN 978-7418-145-0
- [30] POKORNÝ, J., PANOVSÁ, Z. a VALENTOVÁ, H., *Sensorická analýza potravin*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-7080-329-0.
- [31] POKORNÝ, J., VALENTOVÁ, H. a PUDIL, F., *Sensorická analýza potravin: laboratorní cvičení*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-7080-278-2.
- [32] MANGANARIS A. G., GOULAS V., VICENTE R. A., TERRY A. L., *Journal of the Science of Food and Agriculture. Berry antioxidants: small fruits providing large benefits* [online]. Society of Chemical Industry 2013. [cit. 2015-09-29]. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.6432/abstract;jsessionid=E468829AD726D161573D77A0C1715E59.f01t04>
- [33] MANACH C., SCALBERT A., MORAND CH., RÉMÉSY CH., JIMÉNEZ L., *Polyphenols: food sources and bioavailability* [online]. American Society for Clinical Nutrition 2004. [cit. 2015-10-02]. Dostupné z: <http://ajcn.nutrition.org/content/79/5/727.full#F1>
- [34] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: Ossis, 2002. 320 s. ISBN 80-866-59-01-1.
- [35] KREJČÍKOVÁ A., *Zajímavé reakce fenolických látek* [online]. [cit. 2015-09-28]. Dostupné z: <http://konference.osu.cz/svk/sbornik2012/pdf/budoucnost/didaktika/krejcikova.pdf>

- [36] ZADERNOWSKI, R., NACZK M., NESTEROWICZ, J., *Phenolic Acid Profiles in Some Small Berries* [online]. American Chemical Society 2005. [cit. 2015-09-28]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf040411p>
- [37] HESS, D., *Fyziologie rostlin* [online]. [cit. 2015-09-29]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92418.aspx>
- [38] ONDREJOVIČ, M., MALIAR, T., POLÍVKA, L., ILHÁR, S., Polyfenoly jablk. *Chemické Listy*. 2009.
- [39] HARMATHA J., *Strukturní bohatství a biologický význam lignanů a jim příbuzných rostlinných fenylpropanoidů* [online]. [cit. 2015-10-26]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_09_622-632.pdf
- [40] ANDERSEN, Ø., MARKHAM, M., MARKHAM, K., *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. Boca Raton, FL: CRC, Taylor, 2006, 1237 p. ISBN 08-493-2021-6.
- [41] ESPÍN C. J., GARCÍA-CONESA M. T., TOMÁS-BARBERÁN A. F., *Nutraceuticals: Facts and fiction* [online]. Elsevier 2007. [cit. 2015-10-26]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942207005717>
- [42] STRATIL, P., KLEJDUS B., KUBÁŇ, V., *Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals* [online]. Elsevier 2006. [cit. 2015-10-26]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914006005741>
- [43] BLAINSKI, A., LOPES, C. G., PALAZZO DE MELLO, C. J., *Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium Brasiliense L.* [online]. *Molecules* 2013. [cit. 2015-10-26]. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/18/6/6852/pdf>
- [44] *Fotometrické metody* [online]. [cit. 2015-10-26]. Dostupné z: <http://anl.zshk.cz/vyuka/fotometricke-metody.aspx>
- [45] Sommer, L. *Analytická spektrometrie I*. Praha: Statní pedagogické nakladatelství, 1986. 80-7157-559-3
- [46] Sommer, L. *Základy analytické chemie II*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0

- [47] ZÁBRANSKÁ, M. *Analytické využití merkurimetrie* [online]. Masarykova univerzita, 2014. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Marta Farková, CSc. [cit. 2015-09-28]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/379721/prif_b/
- [48] [cit. 2016-02-10]. Dostupné z: <http://www.ped.muni.cz/wchem/comenius2000/vitaminc/struktura.htm>
- [49] *Vitamin C (Ascorbic acid)* [online]. University of Maryland Medical Center. [cit. 2016-02-10]. Dostupné z: <http://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/vitamin-c-ascorbic-acid>
- [50] [cit. 2016-02-10]. Dostupné z: http://hplc1.sweb.cz/Vitamin/methods_water.htm#_Kyselina_askorbova
- [51] Klouda, P. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN-10: 80-86369-07-2
- [52] Volka, K. *Analytická chemie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 978-80-7080-743-9

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

HPLC – high performance (pressure) liquid chromatography

KN1 – Kombinovaný nápoj 1

KN2 – Kombinovaný nápoj 2

UV – VIS – ultraviolet-visible radiation

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Formulář pro hodnocení kombinovaných nápojů

9 PŘÍLOHY

Příloha 1: Hodnocení kombinovaných nápojů

Osobní charakteristika:

(zaškrtněte)

Pohlaví: 1. Muž

2. Žena

Věk: do 20 – 21 – 22 – 23 – 24 – 25 – nad 25

Kouření: 1. silný kuřák

2. slabý kuřák

3. nekuřák

Alkohol: 1. pijan

2. příležitostný konzument

3. abstinent

Ochutnejte prosím předložené vzorky kombinovaných nápojů. Sledujte vzhled, vůni a chuť obou vzorků. Podle uvedené stupnice ohodnoťte jejich jednotlivé vlastnosti a uveďte do tabulky.

Stupnice: 1. velice příjemný

2. příjemný

3. dobrý

4. podprůměrný

5. nevyhovující

1. Hodnocení vzhledu a vůně

Vlastnost	Kombinovaný nápoj 1	Kombinovaný nápoj 2
Intenzita barvy		
Čirot		
Jiskrnost		
Vůně		
Celkový vzhled		

2. Hodnocení perlivosti nápoje

Vlastnost	Kombinovaný nápoj 1	Kombinovaný nápoj 2
Pocit v ústech		
Množství bublinek		
Pocit osvěžení		
Celková příjemnost chuti		

3. Hodnocení chuti

Stupnice: 1. nepostřehnutelná

2. slabá

3. přiměřená

4. silná

5. velmi silná

Chuť	Kombinovaný nápoj 1	Kombinovaný nápoj 2
sladká		
kyselá		
ovocná		
vinná		
hořká		
trpká		
jiná nepříjemná		

4. Rozhodněte, kterému z předložených nápojů byste dali přednost a proč. Zakroužkujte jej:

Kombinovaný nápoj 1

Kombinovaný nápoj 2

Poznámka: