VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ZÁSTUPCE DROBNÉHO OVOCE - RYBÍZ A JEHO NUTRIČNÍ CHARAKTERISTIKY

REPRESENTATIVE OF SMALL FRUIT - CURRANT AND ITS NUTRITIONAL CHARACTERISTICS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE LEONA MARKOVÁ
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE RNDr. MILENA VESPALCOVÁ, Ph.D.
SUPERVISOR

BRNO 2011

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

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	**FCH-BAK0602/2010**	Akademický rok:	**2010/2011**
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií		
Student(ka):	**Leona Marková**		
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)		
Studijní obor:	Biotechnologie (2810R001)		
Vedoucí práce	**RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.**		
Konzultanti:			

Název bakalářské práce:

Zástupce drobného ovoce - rybíz a jeho nutriční charakteristiky

Zadání bakalářské práce:

Teoretická část:
1) Charakteristika rodu Ribes (rybíz)
2) Účinné látky obsažené v plodech rybízu
3) Využití plodů pro potravinářské účely
4) Metody stanovení vybrané účinné látky rybízu

Experimentální část:
1) Stanovení vybrané účinné látky v plodech

Termín odevzdání bakalářské práce: 6.5.2011

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

- -	- -	- -
Leona Marková Student(ka)	RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D. Vedoucí práce	doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc. Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2011

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

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá zástupcem drobného ovoce – rybízem (*Ribes* L.). V teoretické části jsou uvedeny základní informace o rostlině. Dále jsou zde popsány odrůdy rybízu, jeho choroby a škůdci. Pozornost je věnována i produkci a spotřebě těchto plodů v České republice. V následujících kapitolách je zpracován přehled o účinných látkách obsažených v plodech, a také o možnostech zpracování a využití rybízu zejména v potravinářském průmyslu. V závěru teoretické části jsou popsány metody stanovení anthokyanů.

Stěžejním výsledkem experimentální části je porovnání obsahu anthokyanových barviv ve šťávách z červeného a černého rybízu. Byl zhodnocen obsah monomerních a polymerních pigmentů v závislosti na době a teplotě uskladnění rybízové šťávy, a také po jejím zahřátí. Jako metoda stanovení byla použita pH diferenciální metoda.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with representative of small fruit – currant (*Ribes* L.). Basic information about plant is described in theoretical part. Next there are described varieties, diseases and pests of currant. Attention is given also to production and consumption of these fruit in the Czech Republic. The following chapters include a list of active substances which the fruit contains and also the list of some possibilities of processing and utilization of currant especially in the food industry. In conclusion, the theoretical part describes the most common methods for the determination of anthocyanins.

Main result of experimental part is comparison of the content of anthocyanin pigments in juices of red and black currant. Content of monomeric and polymeric pigments was evaluated depending on time and temperature of storage of currant juice and also after heating of this juice. pH differential method was used as the main method.

KLÍČOVÁ SLOVA
rybíz, *Ribes* L., anthokyany, pH diferenciální metoda

KEYWORDS
currant, *Ribes* L., anthocyanins, pH differential method

MARKOVÁ, L. *Zástupce drobného ovoce - rybíz a jeho nutriční charakteristiky*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 52 s. Vedoucí bakalářské 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. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Děkuji tímto mému vedoucímu bakalářské práce paní RNDr. Mileně Vespalcové Ph.D. za podporu, vstřícnost a poskytnuté rady při vypracování této práce.

OBSAH

1 ÚVOD ... 6
2 TEORETICKÁ ČÁST ... 7
2.1 Rod Ribes ... 7
2.1.1 Význam a uplatnění rybízu ... 7
2.1.2 Původ jména ... 7
2.1.3 Historie rybízu ve světě ... 7
2.1.4 Historie rybízu na českém území ... 8
2.1.5 Popis rybízu ... 8
2.1.6 Odrůdy ... 9
2.1.7 Choroby a škůdci ... 10
2.1.8 Produkce a spotřeba rybízu v České republice ... 13
2.2 Obsah účinných látek v plodech rybízu ... 14
2.2.1 Složení plodů ... 14
2.3 Využití plodů pro potravinářské účely ... 23
2.4 Metody stanovení anthokyanů ... 26
2.4.1 pH-diferenciální metoda ... 27
2.4.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie ... 28
2.4.3 HPLC s UV detektorem ... 29
2.4.4 HPLC s hmotnostní detekcí ... 29
2.4.5 HPLC spojená s nukleární magnetickou rezonancí ... 29
2.4.6 Kapilární elektroforéza ... 30
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST ... 31
3.1 Stanovení anthokyanů v plodech rybízu pH diferenciální metodou ... 31
3.1.1 Použité pomůcky a přístroje ... 31
3.1.2 Použité chemikálie ... 31
3.1.3 Příprava roztoků ... 31
3.1.4 Příprava šťávy z plodů červeného a černého rybízu ... 32
3.1.5 Příprava vzorků ... 32
3.1.6 Měření absorpčního spektra anthokyanů při různém pH ... 32
3.1.7 Měření absorbance vzorků ... 32
3.1.8 Měření absorbance vzorků připravených ze zahřáté šťávy ... 33
3.1.9 Stanovení celkového zastoupení anthokyanových barviv v plodech rybízu ... 33
4 VÝSLEDKY A DISKUZE ... 35
4.1.1 Absorpční spektra anthokyanů při pH 1 a 4,5 ... 35
4.1.2 Výsledné naměřené a vypočtené hodnoty a závislosti ... 36
5 ZÁVĚR ... 41
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ ... 43
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ ... 46
8 SEZNAM PŘÍLOH ... 47
9 PŘÍLOHY ... 48

1 ÚVOD

Rybíz se řadí mezi významné zástupce drobného ovoce. Rozlišujeme dvě hlavní skupiny: rybízy červené, resp. bílé a rybízy černé. K ovocnářsky významným druhům patří i meruzalka zlatá (*Ribes aureum* L.), využívaná jako podnož pro kmenné tvary rybízu a angreštu.

Již v dávné minulosti byla člověkem většina druhů drobného ovoce, pro bohatý obsah chuťových a aromatických látek, cílevědomě vyhledávána a později také pěstována. Drobné ovoce se začalo více pěstovat až v souvislosti s rozvojem lékařské vědy, která objevila a objasnila ohromný význam využití ovoce pro lidský organismus.

Ve vyspělých zemích se dnes zhruba polovina celkové spotřeby ovoce konzumuje ve zpracovaném, převážně tekutém či polotekutém stavu. V České republice je situace poněkud odlišná. Podíl zpracovávaného ovoce je poměrně malý a činí z celkové spotřeby ovoce pouze asi 20 %. I z tohoto důvodu je spotřeba ovoce u nás dosud velmi nízká. V České republice je průměrná roční spotřeba drobného ovoce na jednoho obyvatele 4,5 kg a právě zvýšená konzumace konzervovaných výrobků by tuto hranici posunula výše.

Hlavním úkolem našeho ovocnářství je vypěstovat a realizovat na trhu kvalitní ovoce mírného pásma, aby byly uspokojeny potřeby zákazníků a zajištěna konkurenceschopnost a rentabilita odvětví. Předpokládá to důslednou rajonizaci podle ovocných druhů resp. odrůd do pokud možno nejvhodnějších lokalit s příznivými klimaticko-půdními podmínkami.

Snahou šlechtitelských stanic v České republice je vyšlechtit odrůdy s delší třapinou s velkými, vyrovnanými a současně dozrávajícími bobulemi. Mezi další kritéria patří odolnost proti povětrnostním vlivům, chorobám a vhodnost pro mechanizovanou sklizeň.

Rybíz patří nutričně k velmi hodnotnému ovoci, neboť jeho plody obsahují spoustu zdraví prospěšných látek. Kalorická hodnota rybízu není příliš vysoká, a proto má jeho požívání příznivý vliv zejména při odtučňovacích dietách. Kromě těchto stále více zdůrazňovaných požadavků zdravé výživy má na rozšiřující pěstování rybízů výrazný vliv konzervárenská a mrazírensko-technologická vhodnost tohoto ovocného druhu pro zpracování. Správná výživa by měla obsahovat více kvalitnějších konzervárenských i mrazírenských ovocných výrobků.

Protože konzervované i mražené ovoce může být na trhu k dispozici v nejrůznějších formách po celý rok, má jeho uchování zpracováním právě u rybízů, které vydrží čerstvé po sklizni v odpovídajícím konzumním stavu jen několik dnů, mimořádný význam.

Příznivý poměr obsahu kyselin, cukrů, pektinu, barevných a aromatických vlastností a hlavně vysoký obsah i po tepelném zpracování značně stabilního vitaminu C způsobil, že je rybíz velmi významnou surovinou pro zpracovatelský průmysl. Plody rybízu se uplatňují jako vysoce kvalitní surovina, vhodná pro výrobu širokého sortimentu konzervárenských výrobků, např. sirupů, džemů, kompotů, rosolů, dětské výživy i celé škály mrazírenských výrobků a nealkoholických i alkoholických nápojů, např. likérů či ovocných vín.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Rod Ribes

Říše:	rostliny (*Plantae*)
Podříše:	cévnaté rostliny (*Tracheobionta*)
Nadoddělení:	semenné rostliny (*Spermatophyta*)
Oddělení:	rostliny krytosemenné (*Magnoliophyta*)
Třída:	vyšší dvouděložné rostliny (*Rosopsida*)
Podtřída:	*Rosidae*
Řád:	lomikamenotvaré (*Saxifragales*)
Čeleď:	meruzalkovité (*Grossulariaceae*)
Rod:	rybíz (*Ribes* L.)
Druh:	rybíz černý (*Ribes nigrum* L.)
	rybíz červený (*Ribes rubrum* L.) [1]

2.1.1 Význam a uplatnění rybízu

Rybíz je nutričně vysoce hodnotné ovoce ke spotřebě v čerstvém stavu, ale hlavně je důležitou konzervárenskou surovinou. Úroda je jistá i v povětrnostně nepříznivém vegetačním období. Rybízy patří mezi důležité zdroje vitaminů a esenciálních minerálií. Plody nemají vysokou kalorickou hodnotu, protože obsah glycidů, tuků a dusíkatých látek je poměrně nízký.

Na minerální látky jsou nejbohatší černé rybízy. Mají poměrně vysoký obsah organických kyselin (1–4 %), které mají antibakteriální účinky. V zahrádkách se červené a černé rybízy pěstují v poměru 1 : 1.

Bílé rybízy se pěstují v menším zastoupení. [2]

2.1.2 Původ jména

Rybíz patří botanicky do čeledi meruzalkovitých (*Grossulariaceae*), do rodu *Ribes*. Latinský název *Ribes* pochází z arabského slova „*rîbâs*“, což je pojmenování pro reveň (*Rheum*). Arabští lékaři používali reveň jako léčivo a po příchodu Arabů do Španělska, zde začali používat, jako náhražku, podobně chutnající a ve Španělsku, v té době, již běžně pěstovaný rybíz. Jméno „*rîbâs*“ přenesli na tento keř a jeho plody. Odtud se název dostal do Evropy a byl používán až do doby Linnéovy. Švédský přírodovědec a lékař, zakladatel botanické a zoologické systematické nomenklatury Carl Linné použil tento název v roce 1737 pro své vědecké pojmenování v díle „Genera plantarum“ (*Rostlinné rody*). [3, 4]

2.1.3 Historie rybízu ve světě

První zmínky o rybízu pochází z roku 1184 z Mohučského herbáře (*Meinz Herbarius*). Další zmínky pochází z roku 1230 od Simona Januensisa a ze začátku 15. století z latinsko-německého glosáře.

V západní Evropě ve 14. století byl rybíz zaveden do kulturního pěstování nejprve jako léčivá rostlina. Jako zahradní ovoce se rybíz začal pěstovat v 15. století v Holandsku, Dánsku, severním Německu a v oblasti Baltského moře.

V 16. století ve Francii, Holandsku, Rakousku a Německu začala jeho výsadba ve větším měřítku. Byl rozmnožován převážně semenem.

V Rusku byl pěstován dokonce již v 11. století a v 15. století byly jeho plody dováženy z větších výsadeb na trh do Moskvy.

V severozápadní Evropě se objevil až v 16. století. V 18. století, po popsání jeho léčivých účinků, se pěstování rozrostlo. K největšímu rozšíření pěstování došlo v polovině 19. století, kdy se rybíz začal uplatňovat i pro výrobu vína. [3, 5]

2.1.4 Historie rybízu na českém území

O začátcích pěstování rybízu na našem území nejsou dochovány přesné informace. Je však pravděpodobné, že byl rybíz znám již od 16. století. Různé druhy tohoto ovoce se na naše území šířily z Německa do klášterních a zámeckých zahrad.

Začátky významnějšího šlechtění rybízu spadají do poloviny 20. století. Jeho výsadba se koncentrovala hlavně do oblasti Mělnicka, Litoměřicka, podhůří Šumavy, Orlických hor a do vyšších poloh severní Moravy.

Nepřízní cenové politiky a malým zájmem o samotnou surovinu se plochy rybízových výsadeb v předválečném období prudce snížily. Po dobu třiceti let po roce 1950, však došlo z iniciativy zpracovatelských průmyslů k výraznému zvýšení výsadbových ploch rybízu ve velkovýrobě, a také ke stoupajícímu zájmu u drobných pěstitelů a zahrádkářů.

V posledních letech se produkce rybízu snižuje a téměř všechen je vyvážen do zahraničí. [3, 5]

2.1.5 Popis rybízu

Do rodu *Ribes* patří kolem 120 až 130 botanických druhů rybízů rostoucích v přírodě planě v mírně tropickém a subtropickém pásmu.

Rybíz vytváří víceleté keře rozložitého až vzpřímeného vzrůstu. U našich druhů rybízů jsou listy opadavé a letorosty jsou holé, beztrnné. Kvete především buď přímo na jednotlivých výhonech, anebo na plodonosném obrostu na dvouletých a méně již na starších větvích. Doba intenzivního narůstání letorostů bývá koncem května až začátkem června. Květy jsou nevýrazné, světle žlutozelené až slabě načervenalé a u černoplodých rybízů i nafialověle zabarvené. Jednotlivé kvítky jsou talířovitého nebo miskovitého až zvonkovitého tvaru a jsou podle botanického druhu i odrůdy shloučeny v různě husté a dlouhé hrozny. Kvetou velmi časně, přibližně od druhé poloviny dubna. Délka květu bývá podle teplotních podmínek 8 až 20 dní.

Bobule dozrávají podle ranosti odrůd (velmi raná, středně raná, raná, středně pozdní, pozdní, velmi pozdní) asi od 20. června až do poloviny srpna. Jsou různě velké, holé nebo jemně oplstěné a červeně, černě, růžově nebo bíle zbarvené.

Kořenová soustava je středně silná, roste spíše mělce a do šířky. Převážná část kořenů se rozkládá v hloubce asi 20 cm a zasahuje až za okapovou část koruny keře nebo stromku. Nadzemní části rybízu u většiny odrůd velmi snadno zakořeňují. [3]

2.1.6 Odrůdy

Na dosažení bohaté úrody rybízu na zahrádkách i ve větších výsadbách má, kromě vhodného stanoviště, dodržování optimálních agrotechnických opatření a dobrého zdravotního stavu keře nebo stromku, rozhodující vliv odrůda. [2]

Pro vznik současných odrůd a významných odrůd pro šlechtění má, přes velký počet botanických skupin, praktický význam pouze několik málo druhů. [3]

Rybíz obecný (*Ribes vulgare* Lam.)

Roste planě v západní Evropě na lesních mýtinách a na okrajích lesů. Keře dorůstají do výše 1–1,5 m, hrozny jsou krátké s červenými i bílými bobulemi. Vznikly z něho pravděpodobně odrůdy Versailleský (1835), Fayův (1880), Heros, Třešňový červený apod. [3]

Rybíz chlupatý (*Ribes pubescent* Hedl.)

Roste planě ve Skandinávii a v Rusku jak v listnatých, tak i v jehličnatých lesích. Keře jsou vysoké 1–2 m, hrozny dlouhé 4–9 cm, bobule velké a červené. Jeho křížením s *Ribes vulgare* vznikly rovněž některé kulturní odrůdy typu Houghton Castle apod. [3]

Rybíz skalní (*Ribes petraeum* Wulf.)

Roste planě v listnatých lesích severní Afriky a střední Evropy. Keře jsou vysoké až 2 m, hrozny dlouhé 8–10 cm, bobule tmavě červené a kyselé. Vznikla z něho např. odrůda Holandský červený a další, které se vyznačují značnou odolností proti antraknóze.

Křížením předchozích druhů s Meruzalkou mnohokvětou (*Ribes multiflorum)* vznikly např. odrůdy Rote Spätlese (Heinemanns), Rondom a další. [3]

Rybíz černý (*Ribes nigrum* L.)

Roste planě ve vlhkých místech listnatých a smíšených lesů severní a střední Evropy. Keře dorůstají výšky až 2 m, hrozny jsou středně velké a poměrně řídké s černými nebo tmavě fialovými bobulemi. Listy, plody i dřevo typicky voní. [3]

Mnoho dalších odrůd vzniklo náhodně jako semenáče, takže jejich původ je nejasný. Pravděpodobně takto vznikly tzv. krajové odrůdy. [3]

Obrázek č. 1: Rybíz obecný [6]

Obrázek č. 2: Rybíz skalní [7]

Obrázek č. 3: Rybíz černý [8]

Meruzalka zlatá (*Ribes aureum* Pursh.)

Roste planě v listnatých lesích Severní Ameriky. Její keře dorůstají výšky 2,5–3 m, hrozny jsou většinou krátké, bobule černé. V ovocnictví se dosud používala jen jako podnož pod stromkový angrešt a rybíz. V poslední době však byly vyselektovány klony, jejichž plody mají velmi cenné konzervárensko-technologické vlastnosti. [3]

Obrázek č. 4: Meruzalka zlatá (květ, plod) [9]

Bílé odrůdy rybízů vznikly vzájemným křížením některých druhů, např. křížením Rybízu skalního (*R. petraeum* Wulf.) s Rybízem mnohokvětým (*R. multiflorum*) vznikla odrůda Viktoria. Křížením Rybízu mnohokvětého a Rybízu červeného (*R. rubrum* L.) vznikla odrůda Blanka. [4]

Ve státní odrůdové knize ČR jsou zaregistrovány následující odrůdy.

Bílé rybízy

Blanka, Primus, Viktoria, Jantar, Olin, Orion.

Perspektivní je švédská odrůda Vit Jätte a slovenské odrůdy Dominika a Gerlach.

Červené rybízy

Detvan, Heinemannův pozdní, Holandský červený, Hron, Jonkheer van Tet`s, Koral, Losan, Maraton, RedLake, Rondom, Rubigo, Tatran, Vitan a Trent.

Perspektivní jsou i zahraniční odrůdy, např. Rekord, Expres a další.

Černé rybízy

Damon, Eva, Fertödi l, Favorit, Moravia, Otelo, Öjebyn, Roodknop, Viola.

Pespektivní jsou i zahraniční odrůdy Katka, Zuzka, Titánie, Triton, Tiben, Tisel, Ben Lemond a další. [2]

2.1.7 Choroby a škůdci

Virové choroby způsobují snížení úrodnosti v rozsahu od 10 do 90 %. Doposud nejsou známy léčebné přípravky proti virózám, a proto jako prevence slouží např. likvidace přenašečů (vektorů), likvidace nemocných jedinců a výsadba bezvirózního výsadbového materiálu. [2]

Žilková mozaika rybízů

Virus se přenáší vegetativním množením nebo mšicemi. Způsobuje světle zelené až žlutozelené zbarvení žilek, deformaci listů, zkrácení a oslabení letorostů, méně plodů, které jsou malé a nekvalitní. Vyskytuje se převážně u rybízu červeného a černého. [10]

Zvrat černého rybízu

Původcem této choroby je *Black currant reversion virus* (BCRV). Přenáší se vegetativním množením nebo roztoči. Způsobuje deformaci listů a květů. Listy jsou menší, užší, nesouměrné, mají menší počet laloků, zoubků a hlubší zářezy na čepeli. U květů jsou květní pupeny hladší, kališní lístky rozdělené, nedochází k opylení a květy zasychají nebo malé bobule opadávají. [10]

- Živočišní škůdci

Vlnovník rybízový (*Cecidophyopsis ribis*)

Zapříčiňuje zduření pupenů, které se na jaře nerozvinou, poté zhnědnou, zaschnou a opadají. Úroda se sníží, keře oslabí a uhynou. Tento škůdce je současně hlavním vektorem vírové choroby zvané zvrat černého rybízu. Vlnovníkovi se dá předejít použitím vhodných insekticidů. U napadených keřů je vhodné ořezávat výhonky s hálkami. Keře s více než 12 % napadených pupenů se doporučuje likvidovat, protože není naděje na jejich ozdravění. [11]

Mšice rybízová (*Cryptomyzus ribis*)

Na spodní straně listu se tvoří kolonie mšic, jejichž sání způsobuje vyrašení na líci listů nápadných, klenutých, u červeného rybízu červených, u bílého a černého rybízu žlutě zbarvených puchýřů. Mšice snižují výnosy plodů, oslabují keře a přenáší virózy. Prevencí proti tomuto škůdci mohou být běžné insekticidy. [11]

Sviluška chmelová (*Tetranychus telarius*)

Při přemnožení způsobuje sáním mízy předčasné opadávání listů už v letních měsících. Na listech se objeví drobné světlé skvrnky a na jejich spodní straně jemná pavučinka. Listy nabývají bronzového zbarvení, zasychají a předčasně odumírají. Květy také zasychají. Nejvhodnější přípravky na její likvidaci jsou speciální akaricidy. [11]

Pilatka angreštová (*Pristiphora pallipes*)

Škůdce bílého a červeného rybízu. Housenky pilatky napadají pouze listy, ve kterých vyžírají díry a při silném přemnožení způsobují holožír, tedy likvidaci veškerého listí. Jako prevence je dobré pozorovat rostliny a při prvních příznacích výskytu pilatky ihned napadené listy likvidovat. [11]

Puklice švestková (*Parthenolecanium corni*)

Velmi rozšířený škůdce. Její larvy sají mízu od června do zimy, nejprve na listech, poté na mladých větévkách, čímž způsobují krnění, usýchání a odumírání větví. Po jejich přemnožení, zesláblé dřeviny málo plodí, mají drobné, nedostatečně vyzrálé plody, větve usychají, dřevo nevyzrává a rostliny v zimě vymrzají.

Ochranou je seškrabat škůdce z větví a poté je spálit. Žádoucí jsou i postřiky. [11]

- Houbová onemocnění

Antraknóza rybízu (*Drepanopeziza ribis*)

Podle původce je tato choroba známá i jako pakustřebka rybízová. Napadeny bývají listy a při velmi silném rozsahu choroby i plody, letorosty, stopky květů a plodů, na kterých vznikají žluté až tmavohnědé skvrny. Napadené rostliny jsou oslabovány, bobule na nich špatně vyzrávají a keře či stromky snadněji namrzají. Antraknóza patří k nejzávažnějším houbovým chorobám červených a bílých rybízů. Obranou proti tomuto škůdci mohou být fungicidy. Je důležité zlikvidovat opadané listí, ve kterém houba přezimuje. [11]

Americké padlí angreštové (*Sphaerothecamors-uave*)

Tento druh padlí způsobu je na letorostech, listech a plodech bílé povlaky, které postupně hnědnou a vytvářejí se na nich drobné tmavé pohlavní plodničky. Napadené letorosty přestávají růst, listy jsou menší a deformované, plody zůstávají tvrdé, mají nepříjemnou chuť a při silném napadení se nevyvíjejí a zasychají. Proti této chorobě se lze bránit postřiky fungicidů. [11]

Plíseň rybízu (*Botrytis cinerea*)

Plíseň šedá je typická šedým povlakem (vlákna mikroskopické houby), který je tvořen na povrchu plodů nebo listů napadené rostliny. S postupem času se na listech objevují hnědé skvrny, které se rozšiřují na celý list a ty předčasně opadávají nebo zůstávají suché viset na větvích. Při silnějším napadení jsou zdravé listy pouze na koncích letorostů. Při výskytu této choroby na jedné plodině musíme dávat pozor, aby nedošlo k rozšíření na ostatní plodiny. Účinné je odstranit všechny napadené části rostlin. Bránit se lze také fungicidy. [10]

Rez vejmutovková (*Cronartium ribicola*)

Tato mykóza se projevuje viditelnými žlutozelenými skvrnami na lícní straně listů. Na spodní straně listů, v místě těchto skvrn, jsou nejprve žlutooranžové prášivé kupky letních výtrusů, které se v průběhu června mění na hnědavé povlaky zimních výtrusů. Napadené listy postupně žloutnou, zasychají a předčasně opadávají. Tím dochází k postupnému snižování výnosu plodů a ke špatnému vyzrávání dřeva, což má vliv zejména na mrazuvzdornost rybízů. Obranou proti této mykóze mohou být fungicidy. [11]

Obrázek č. 5: Mšice rybízová [11]

Obrázek č. 6: Mšice rybízová - vrchní strana listu rybízu [11]

Obrázek č. 7: Rez vejmutovková [11]

Obrázek č. 8: Plíseň rybízová (šedá) [12]

2.1.8 Produkce a spotřeba rybízu v České republice

Celková výměra ovocných sadů v ČR k 31. 5. 2010 dosahuje podle ČSÚ 22 776 ha, tj. o 1 038 ha více v porovnání s rokem 2009. Největší plochy sadů se nacházejí v kraji Jihomoravském (4 200 ha) a Středočeském (3 784 ha), následuje kraj Královéhradecký (3 018 ha) a Ústecký (2 871 ha). [13]

Tabulka č. 1: Přehled výsadeb a celkové produkce rybízu v ČR [13]

Rok	Počet keřů (ks)	Sklizeň (t)	Výnos (kg/keř)
2002	12 431 982	13 487	1,08
2003	11 022 796	13 472	1,22
2004	10 939 329	20 942	1,91
2005	10 454 125	15 057	1,44
2006	8 867 439	11 730	1,32
2007	10 408 661	15 884	1,53
2008	9 993 828	17 088	1,71
2009	9 554 372	16 259	1,70

Tabulka č. 2: Celková produkce rybízu v produkčních ovocných sadech [13]

Vývoj ploch (ha)					Vývoj sklizně a výnosů			
Rybíz	červený a bílý		černý		červený a bílý	černý	červený a bílý	černý
Rok	∑	plodné	∑	plodné	celková sklizeň (t)		průměrný výnos (t/ha)	
2006	1 270	1 093	392	312	2 968	470	2,72	1,51
2007	1 078	976	349	257	2 826	374	2,90	1,46
2008	1 053	1 008	351	278	3 064	351	3,04	1,26
2009	1 002	984	345	344	2 372	547	2,41	1,59
2010	902	891	321	313	2 047	585	2,30	1,87

Tabulka č. 3: Spotřeba rybízu [13]

Roční spotřeba čerstvého rybízu na osobu (kg)											
Rok	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
m (kg)	1,7	1,8	1,4	1,4	1,1	1,2	1,9	1,3	0,9	1,2	1,4

2.2 Obsah účinných látek v plodech rybízu

2.2.1 Složení plodů

Pro rybíz je charakteristický především vysoký obsah vody. Množství cukrů, fruktosy a glukosy, je kromě samotného druhu pochopitelně závislé i na odrůdě a na teplotním charakteru ročníku. Rybíz má minimální obsah sacharosy.

Množství vlákniny se liší, jak podle druhu, tak i stáří plodů, množství a velikosti semen a vegetačních podmínek.

Dostatečné množství pektinových látek umožňuje snadné želírování konzervárenských výrobků, tedy vytváření rosolů. U zralých plodů se však protopektin mění na pektin, čímž se schopnost vytvářet rosol značně snižuje.

Obsah tuků a bílkovin v rybízu z hlediska jejich množství a složení nemá pro výživu člověka praktický význam.

Velmi důležitým faktorem je obsah vitaminu C, který je přítomen ve formě kyseliny L-askorbové. Její obsah vzrůstá až do doby ukončení růstu plodů. Při zrání se snižuje, a to až o jedno procento denně. Samotný obsah vitaminu C je ovlivňován charakterem klimatických podmínek v průběhu roku a velmi výrazně i samotnými odrůdami.

Srovnáváme-li obsah vitaminu C v černém rybízu s obsahem vitaminu C v citrónech, pak při výnosu asi 6 kg rybízu z jednoho keře se tato sklizeň obsahem vitaminu C rovná přibližně 14 kg citrónů. [3]

Tabulka č. 4: Obsah vitaminu C v plodech různých odrůd rybízu [3]

Odrůda	Rok 1955 (mg/100 g)	Rok 1956 (mg/100 g)
Silvergieter	117,3	207,0
Rosenthalův dlouhohrozen	146,8	217,4
Wellington XXX	173,8	266,8
Roodknop	197,4	234,9
Goliáš	105,6	142,8

Rybízy obsahují také flavonoidy, tedy vitamin P a v poměrně malém množství jsou zastoupeny provitaminy skupiny A - karoteny. Obsah vitaminů skupiny B není příliš významný.

Z organických kyselin jsou zastoupeny především tzv. ovocné kyseliny - citrónová, jablečná a vinná, kdežto ostatní, jako např. mravenčí, šťavelová a jantarová, jen v zanedbatelných množstvích. Při látkových přeměnách se tyto kyseliny mění hlavně na kyselé uhličitany, přičemž organismus získává určitou energii.

Přítomnost tříslovin se v ovoci projevuje všeobecně ztmavnutím vylisovaných šťáv. Složení aromatických látek není dosud zcela přesně prozkoumáno. [3]

Tabulka č. 5: Chemické složení rybízu, obsah nutrietu ve 100 g jedlého podílu. [14, 3]

Název nutrientu	Rybíz černý	Rybíz červený	Rybíz bílý	Jednotka
Bílkoviny celkové	1,49	1,97	-	g
Dusík celkový	0,2	0,2	-	g
Lipidy celkové	0,92	1,73	-	g
Sacharidy celkové	9,8	4,5	7,0	g
Glukosa	3,3	1,5	2,8	g
Fruktosa	3,9	3,0	2,8	g
Sacharosa	1,3	-	0,8	g
Vláknina potravy	5,8	4,2	6,3	g
Voda celková	82,0	85,4	-	g
Popel	0,8	0,8	-	mg
Pektin	1,60	1,47	1,08	mg
Třísloviny	0,42	0,119	-	mg
Polynenasycené mastné kyseliny				
Omega-6 mastné kyseliny (n-6)	0,07	0,04	-	g
C 18:2, n-6	0,07	0,04	-	g
Vitaminy				
Vitamin B1 (thiamin)	0,06	0,04	-	mg
Vitamin B2 (riboflavin)	0,04	0,02	-	mg
Vitamin C	181	40,2	50	mg
Vitamin A	0,15	0,9	-	mg
Beta-karoten	81	24	-	µg
Vitamin E	2,1	0,80	-	ATE
Alfa - tokoferol	2,1	0,80	-	mg
Vitamin P	2 138	450	400	mg
Minerální látky				
Sodík	4	3	-	mg
Hořčík	19	16	-	mg
Fosfor	54	32	-	mg
Draslík	321	242	-	mg
Vápník	42	32	-	mg
Síra	4,1	7,2	-	mg
Železo	1,3	1,0	-	mg

Sacharidy

Sacharidy jsou nejrozšířenější přírodní látky, obsažené ve všech rostlinných a živočišných buňkách. Sacharidy jsou zastoupeny polyhydroxyaldehydy nazývanými též aldosy a polyhydroxyketony neboli ketosami, jejichž molekuly jsou složeny minimálně ze tří alifaticky vázaných atomů uhlíku. Podle počtu atomů uhlíku přítomných v molekule se sacharidy dělí na triosy, tetrosy, pentosy, hexosy atd. Rozlišují se také podle počtu cukerných jednotek vázaných v molekule na monosacharidy, tvořené jednou cukernou jednotkou, oligosacharidy, tvořené dvěma až deseti cukernými jednotkami a polysacharidy neboli glykany, které jsou tvořeny více než deseti cukernými jednotkami.

Biosyntéza a degradace sacharidů poskytují důležité komponenty primárního metabolismu, které jsou nezbytné pro všechny živé organismy. Sacharidy vznikají v přírodě v buňkách fotoautotrofních organismů fotosyntézou a rostliny je využívají jako vlastní zdroj energie, syntetizují z nich konstrukční součásti buněčné stěny a různé složky mnoha biologicky aktivních látek jako glykoproteiny, proteoglykany, glykolipidy, některé hormony, koenzymy, vitaminy aj.

Heterotrofní organismy získávají potřebné sacharidy z organismů autotrofních nebo z nesacharidových substrátů, jako jsou některé aminokyseliny, hydroxykyseliny, glycerol a jiné látky. Tento děj se nazývá glukoneogeneze.

Plody rybízu obsahují monosacharidy (glukosu, fruktosu), oligosacharidy (sacharosu) a polysacharidy (hemicelulosu, pektiny). [15, 16]

Vláknina

Vláknina neboli vláknina potravy je termín, který zahrnuje látky řadící se k nevyužitelným polysacharidům. Konkrétně jsou to celulosa, hemicelulosy a pektin, dále polysacharidy používané jako aditivní látky (polysacharidy mořských řas, mikrobiální polysacharidy, rostlinné gumy a slizy, modifikované polysacharidy) a lignin, z živočišných polysacharidů je to chitin (a modifikovaný chitin chitosan). Některé z nich, např. pektin, mohou být relativně dobře využitelné.

Podle rozpustnosti ve vodě se vláknina dělí na rozpustnou a nerozpustnou. K vláknině rozpustné ve vodě se řadí určitý podíl hemicelulos, pektiny, rostlinné slizy, polysacharidy mořských řas, modifikované škroby a modifikované celulosy. Hlavní podíl nerozpustné vlákniny tvoří celulosa, určitý podíl hemicelulosa a dále lignin. Poměr nerozpustné a rozpustné vlákniny v potravě by měl být 3 : 1. [15]

Pektin

Pektin je komplexní kyselý polysacharid složený z lineárního řetězce 25–100 jednotek D-galakturonové kyseliny s vazbami α-(1→4). Pektiny se nacházejí v pletivech všech vyšších rostlin, kromě jednoděložných, jako součást stěn primárních buněk a mezibuněčných prostor. Pektinové polysacharidy mají tedy rozhodující vliv na strukturu buněčné stěny, růst rostlin, a jejich vývoj. Pektiny se nachází ve všech druzích ovoce a zeleniny. [15, 16]

Vitamin C

Kyselina askorbová je základní biologicky aktivní sloučenina vitaminu C. Existují čtyři možné stereoisomery kyseliny askorbové a pouze L-askorbová kyselina vykazuje aktivitu vitaminu C. Její isomer D-askorbová kyselina a druhý pár enantiomerů, L a D-isoaskorbová kyselina aktivitu vitaminu C nevykazují.

Vitamin C je nezbytný k životu a v lidském těle plní mnoho důležitých funkcí. Je rozpustný ve vodě, dále citlivý na teplo a vysoce oxylabilní. V přírodě se nachází ve dvou formách, kyselina askorbová jako redukovaná forma a kyselina dehydroaskorbová jako oxidovaná forma. Kyselina askorbová má silné redukční vlastnosti, lehce se oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou a vytváří tím tak v přírodě důležitý oxidačně-redukční systém.

V potravinách rostlinného původu je zpravidla 90–95 % vitaminu C přítomno ve formě askorbové kyseliny, zbytek tvoří dehydroaskorbová kyselina.

Černý rybíz patří k bohatým zdrojům vitaminu C. [15]

Vitamin A

Vitamin A i jeho provitaminy jsou chemicky terpenoidy nazývané také isoprenoidy. Provitaminy A jsou tetraterpeny nebo tetraterpenoidy (kyslíkaté deriváty), které obsahují v molekule 40 atomů uhlíku. Štěpné produkty provitaminů A jsou apokarotenoidy a u rostlin plní funkci hormonů, pigmentů, vonných látek a řadu obranných funkcí. Základním biologicky aktivním apokarotenoidem v živočišných tkáních je retinol neboli vitamin A_1.

Aktivitu vitaminu A vykazuje dalších asi padesát přirozeně se vyskytujících sloučenin ze skupiny karotenoidů (tetraterpenů), které se nazývají provitaminy A. Nejvýznamnějším provitaminem A je beta-karoten.

Beta-karoten se vyskytuje jako barvivo v žlutooranžovém a tmavě zeleném ovoci a zelenině. Kromě toho, že slouží jako zdroj vitaminu A, vykonává v organismu řadu dalších funkcí. Především působí jako antioxidant. [15]

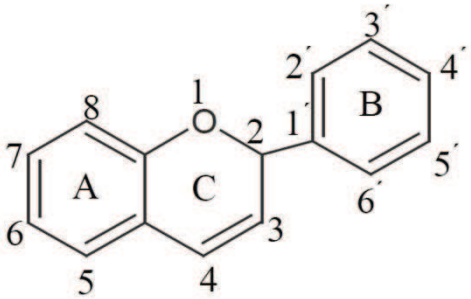
Třísloviny

Třísloviny neboli tanniny jsou fenolové sloučeniny interagující s proteiny. Rostlinné tanniny se dělí do dvou tříd, na hydrolyzovatelné třísloviny a kondenzované třísloviny. Hydrolyzovatelné třísloviny jsou polymery esterů gallové kyseliny nazývané polygalloylestery. Kondenzované tanniny jsou polymery některých flavonoidních látek mající strukturu 3-hydroxyflavanu nazývané flavolany. Existují i komplexní tanniny, což jsou sloučeniny vzniklé libovolnou kombinací hydrolyzovatelných a kondenzovaných tříslovin.

Interakcí proteinů slin s některými polymerními fenolovými sloučeninami přítomnými v potravinách rostlinného původu vzniká trpká chuť. Třísloviny obsažené v potravinách tedy značným způsobem ovlivňují žádoucí i nežádoucí chuťové vlastnosti potravin. Žádoucí je přiměřená trpkost např. u kávy. Nežádoucí trpkost má nezralé ovoce např. banány. [16, 17]

Flavonoidy

Skupinu rostlinných barviv představují flavonoidní látky. Vyskytují se jako volné látky, častěji jako glykosidy, acylované glykosidy, i jako polymery. Množství flavonoidů se odhaduje na 4 000 až 5 000 sloučenin. Každou molekulu tvoří dva benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Ve většině sloučenin je C_3 řetězec součástí heterocyklického kruhu odvozeného od 2*H*-pyranu. Flavonoidy jsou tedy odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny flavanu, který je tvořen 2*H*-chromenem se substitucí v poloze C-2 fenylovou skupinou. Většinou bývají všechny tři kruhy substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace a právě na základě substitucí a stupně oxidace na C_3 řetězci se rozlišují základní struktury flavonoidů: katechiny, leukoanthokyanidiny, flavanony, flavononoly, flavony, flavonoly, anthokyanidiny. [16, 17]



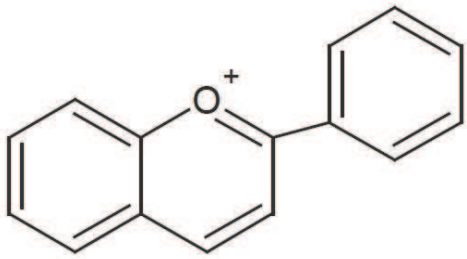
Obrázek č. 9: Struktura flavanu [17]

Anthokyany

Anthokyany jsou nejrozšířenější skupinou rostlinných barviv rozpustných ve vodě. V přírodě je identifikováno přes 300 různých anthokyanů, které barví zralé ovocné plody, některé druhy zeleniny a květy. Jejich barevnost se pohybuje ve škále červených odstínů od karmínové až k modrofialové a purpurové (v závislosti na pH prostředí). [18]

Struktura

Anthokyany jsou heteroglykosidy různých aglykonů tzv. anthokyanidinů, které jsou odvozeny od jedné základní struktury, flavyliového kationtu. Je známo, že v přírodě existuje 17 různých anthokyanidinů. [17]



Obrázek č. 10: Struktura flavyliového kationtu [17]

Barva aglykonů je do značné míry barvou materiálů, ve kterých jsou obsaženy. Ve všech rostlinných materiálech jsou hlavními pigmenty glykosidy a acylované glykosidy anthokyanidinů. V některém ovoci nebo zelenině jsou přítomny anthokyany odvozené pouze od jediného anthokyanidinu, jindy jsou barviva odvozena od několika různých anthokyanidinů např. anthokyany černého rybízu jsou deriváty kyanidinu a delfinidinu.

Pět sacharidů představuje cukernou složku molekuly anthokyanů. Nejvíce se v anthokyanech vyskytuje D-glukosa, L-rhamnosa, D-galaktosa a v menší míře D-xylosa i L-arabinosa.

Sacharidy jsou vázány vždy v poloze C_3, pokud je glykosylována další hydroxyskupina, děje se tak v poloze C_5, v tomto případě je cukrem glukosa, méně často rhamnosa, výjimečně se cukr váže do polohy C_7, C_3', C_5'a C_4' (obvykle glukosa). Pokud je na C_3 hydroxyskupina volná, dochází k destabilizaci anthokyanidinového chromoforu, takže hydrolýza cukru vázaného jako O-glykosid na C_3 způsobí rychlý rozklad anthokyanidinu a jeho nevratnou ztrátu barvy.

Podle počtu navázaných molekul cukru se anthokyany dělí na 18 skupin, z nichž nejvýznamnější jsou:

Monosidy – molekula aglykonu je vázána s jednou molekulou monosacharidu (např. s glukosou, galaktosou, rhamnosou nebo arabinosou) v poloze C_3

Biosidy – molekula aglykonu je vázána v poloze C_3 s jednou molekulou disacharidu (např. s rutinosou, sambubiosou, soforosou, genciobiosou, neohesperidosou, laminaribiosou, robinobiosou aj.)

Triosidy – molekula aglykonu je vázána s lineárními nebo rozvětvenými trisacharidy vázanými v poloze C_3

3,5-diglykosidy – molekula aglykonu s monosacharidy v poloze C_3 a C_5

3,7-diglykosidy – molekula aglykonu s monosacharidy v poloze C_3 a C_7

3-biosidy-5-monosidy – molekula aglykonu je v poloze C_3 vázána s disacharidem a v poloze C_5 s monosacharidem

Cukry bývají často acylovány fenolovými kyselinami (p-kumarovou, kávovou, ferulovou, sinapovou, méně často p-hydrxybenzoovou), malonovou a octovou. Kyselina se obvykle váže na hydroxylovou skupinu glukosy v poloze C_6 a u rhamnosy v poloze C_4. S výjimkou jsou acylovány pouze 3-glykosidy. [17, 18]

Výskyt

Anthokyany se nachází v buněčných vakuolách a iontově interagují s organickými kyselinami (malonovou, jablečnou, citrónovou). Anthokyany tvoří barvu modrých hroznů, třešní, švestek, malin, jahod, ostružin, jablek, hrušek, lilkovitých rostlin (brambory s červenou slupkou), lomikamenovitých (černý a červený rybíz, červený angrešt), vřesovcovitých (borůvky, brusinky), brukvovitých (červené odrůdy zelí) aj. Počet anthokyanů obsažených v jedné rostlině se může pohybovat od jednoho či dvou po více než deset různých barviv. [17]

Tabulka č. 6: Hlavní anthokyany v rybízu [17]

Ovoce	Anthokyanové barvivo
Rybíz černý	kyanidin a delfinidin-3-glukosid, 3-diglukosidy, 3-rutinosidy
Rybíz červený	kyanidin-3-glukosid, 3-rutinosid, 3-sambubiosid, 3-soforosid, 3-glukosylrutinosid, 3-xylosylrutinosid

Fyziologie

V ovocných plodech vznikají anthokyany v tzv. klimakterické fázi pravděpodobně dehydrogenací proanthokyanů (leukoanthokyanů), které patří k ovocným tříslovinám. Jednotlivé tkáně tvoří anthokyany nestejně. U některých rostlinných druhů jsou barviva obsažena v celém plodu, u jiných naopak například pouze ve slupce. Vybarvení často závisí na intenzitě slunečního záření. Velmi důležitým faktorem ovlivňujícím tvorbu anthokyanů je ovšem teplota, jejíž optimum je závislé na rostlinném druhu.

Zajímavé je, že v některých poraněných tkáních nebo biochemicky vadných plodech může docházet k intenzivní tvorbě anthokyanů. Na druhou stranu u plodů napadených hnilobou dochází k rychlé degradaci anthokyanů. [18]

Použití

Anthokyany izolované z přírodních zdrojů se používají jako potravinářská barviva po dobu delší než sto let a ve formě koncentrátů různých šťáv mnohem déle. Jsou vhodné jen pro kyselé potraviny, neboť jejich barva je intenzivní pouze v prostředí o pH menším než 3,5.

Nejvíce využívaná jsou anthokyanová barviva získaná z hroznů révy vinné (slupek nebo sedimentů), obsahují 0,3–7,5 g/kg pigmentů. Bohatým zdrojem jsou také plody bezu černého (bezinky), které obsahují 2–10 g/kg, nebo aronie černoplodé obsahující 10 g/kg pigmentů. Dalšími zdroji jsou hlávky červeného zelí, květy ibišku, některé sladké brambory, pomeranče s červenou dužninou, listy a semena červených odrůd kukuřice.

V souvislosti s použitím pro potravinářská aditiva byla u anthokyanových barviv zkoumána jejich toxicita a mutagenita, která nebyla prokázána nebo byla velmi nízká. [17]

Vlastnosti a reakce

Anthokyanová barviva jsou značně reaktivní a velmi nestálá. Z technologického hlediska je nejvýznamnější vlastností právě jejich barva a její stabilita.

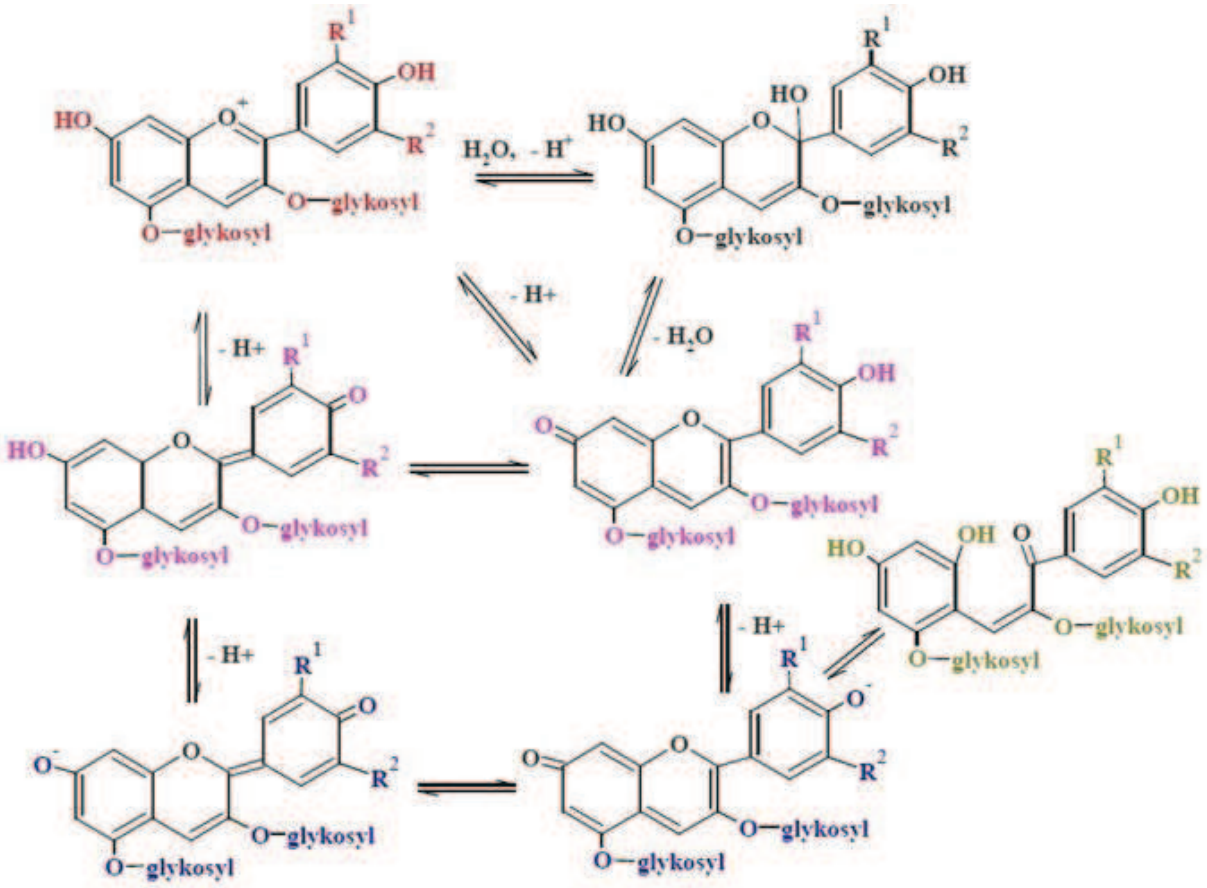
Hlavní faktory ovlivňující barvu a stabilitu anthokyanů jsou struktura molekuly, přítomnost některých enzymů, pH prostředí, teplota, přítomnost kyslíku a působení záření.

Reakcemi s jinými složkami potravin mohou z anthokyanů vznikat jinak barevné nebo bezbarvé produkty, např. s askorbovou kyselinou, oxidem siřičitým, jinými fenoly, kovovými ionty aj. [17]

- Vliv pH prostředí

Ve vodném prostředí dochází k přeměnám, které jsou závislé na pH prostředí. V závislosti na pH existuje rovnováha mezi pěti různými strukturami aglykonů:

- červeným flavyliovým kationtem
- bezbarvou karbinolovou pseudobází
- purpurově červenou neutrální chinoidní bází
- modrou chinoidní bází
- žlutě zbarveným chalkonem [17]



Obrázek č. 11: *Transformace anthokyanů v závislosti na pH prostředí (R_1 a R_2 = H, OH,OCH_3, O-glykosyl)* [19]

V prostředí o pH 1,0 a nižším, existují anthokyany výhradně jako červeně zbarvené flavyliové soli. Při zvyšování pH se rovnováha posunuje ve prospěch bezbarvé karbinolové pseudobáze a červená barva slábne. Přibližně v rozmezí hodnot pH 4,0–4,5 dojde k úplnému odbarvení. Dalším zvyšováním pH vzniká opět purpurově červené zbarvení, které je vyvoláno tvorbou neutrální chinoidní báze. Pro vznik neutrální chinoidní báze je nezbytná přítomnost volné hydroxyskupiny na jednom z uhlíků (C-5, C-7, C-4´).

V rozmezí hodnot pH 7,5–8,0 se tvoří její modře zbarvený anion. Po delší době nebo při dalším růstu hodnoty pH se intenzita modrého zbarvení snižuje a postupně se tvoří žlutý chalkon. Jestliže se roztok barviva znovu okyselí na hodnotu pH zhruba 1,0, přemění se chinoidní a karbinolová báze znovu na flavyliový kation. Transformace chalkonu je pomalejší a není kvantitativní.

Ve zpracovávaném ovoci a zelenině je však situace složitější. Anthokyany se v rostlinách (v prostředí o pH 2,5–7,5) vyskytují jako neutrální chinoidní báze. V potravinářských výrobcích se mohou nacházet v prostředí o jiném pH než je přirozené. Jsou však vesměs stabilizovány interkopigmentací (interakcí s jinými flavonoidy), nebo intrakopigmentací (acylované formy), případně interakcemi s jinými složkami potravin.

Řada výrobků si proto zachovává svoji původní, nebo částečně změněnou barvu. V dlouhodobě skladovaných výrobcích (např. jahodových džemech) vznikají oligomery s barvou podobnou barvě původních anthokyanů, přičemž původní anthokyany nemusí být vůbec přítomny. [17]

- Vliv struktury

V kyselém prostředí je barva neacylovaných a monoacylovaných anthokyanů závislá hlavně na počtu a druhu substituentů aglykonu (anthokyanidinu). Anthokyanidiny s větším počtem hydroxylových skupin mají spíše modrý odstín, deriváty s methoxyskupinami mají spíše červený odstín, glykosidy a jejich acylderiváty mají všeobecně modré zbarvení.

Deriváty s vyšším počtem hydroxylových skupin jsou méně stabilní, s rostoucím počtem methoxylových skupin se stabilita zvyšuje. Glykosidy jsou stabilnější než aglykony a diglykosidy jsou během skladování, tepelného zpracování a expozice světelnému záření stabilnější než monoglykosidy. Na stabilitu barvy má také vliv druh vázaného cukru.

Přítomnost jedné nebo více acylových skupin stabilizuje anthokyany. Reakcí s vodou v slabě kyselém, nebo neutrálním prostředí se potom netvoří bezbarvá chinoidní báze, ale přednostně modrá chinoidní báze. Tyto pigmenty jsou méně citlivé na změny pH a zůstávají barevné také v slabě kyselém a neutrálním prostředí. [17]

- Vliv teploty

Stabilita anthokyanů a rychlost jejich degradace je ovlivněna teplotou. Většina anthokyanů má poněkud vyšší stabilitu při zvýšených teplotách používaných při zpracování ovoce a zeleniny. Tento jev se vysvětluje ochranným efektem různých složek systému a kondenzací monomerů. Tím vznikají stabilnější oligomerní pigmenty, jejichž množství se zvyšuje s teplotou a skladovací dobou. Jsou významnými nositeli zbarvení ovocných šťáv a červených vín. [17]

- Enzymy

Ztráta barvy může být způsobena také enzymovými reakcemi katalyzovanými dvěma skupinami enzymů. Působením enzymů glykosidas se hydrolyzují glykosidové vazby za vzniku příslušného cukru a aglykonu, které jsou nestabilní a samovolně transformují na bezbarvé deriváty. Působením polyfenoloxidas probíhá enzymové hnědnutí. [17]

- Kyslík a peroxidy

Vzdušný kyslík oxiduje anthokyany na nebarevné a hnědě zbarvené produkty přímo nebo prostřednictvím jiných labilních sloučenin, které se oxidují kyslíkem přednostně (např. kyselina askorbová). Destrukce anthokyanů vyvolaná askorbovou kyselinou probíhá nepřímo působením peroxidu vodíku, který vzniká její oxidací. Např. z anthokyanového barviva malvinu vzniká oxidací peroxidem vodíku vedle dalších produktů bezbarvý malvon. [17]

- Záření

Anthokyany jsou nestabilní, jsou-li vystaveny působení viditelného, ultrafialového nebo ionizujícího záření. Rozklad probíhá hlavně jako fotooxidace. Anthokyany substituované na C-5 hydroxylovou skupinou, které fluoreskují, jsou citlivější k fotochemickému rozkladu ve srovnání s anthokyany v poloze C-5 nesubstituovanými. [17]

- Oxid siřičitý

Bezbarvé velmi stabilní adiční sloučeniny anthokyanů vznikají také působením oxidu siřičitého. Reakce s SO_2 je reverzibilní a okyselením a zahřátím materiálu se z velké části regenerují původní anthokyany. [17]

- Cukry a jejich rozkladné produkty

Koncentrace cukrů vyšší než 20 % (např. v džemech a podobných výrobcích) mají stabilizující účinek na barvu anthokyanů, především z důvodů snížené aktivity vody. Degradace anthokyanů je urychlována degradačními produkty cukrů, a to zejména furan-2-karbaldehydem a 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydem, které s anthokyany poskytují hnědě zbarvené komplexní kondenzační produkty. [17]

- Další reakce

Anthokyany tvoří komplexy s různými sloučeninami. Významné jsou zejména jejich interakce s jinými flavonoidy, bílkovinami a polysacharidy. Děj se nazývá intermolekulární kopigmentace. Většina partnerů anthokyanů v těchto reakcích jsou bezbarvé látky, ale vznik komplexu či jiného produktu s anthokyany zvyšuje stabilitu zbarvení chromoforu. Jedná se o ochranu před nukleofilním atakem vody, který má za následek vznik karbinolové pseudobáze a následnou ztrátu barvy.

Komplexy anthokyanů se strukturou *o*-difenolů s kovy (AI, K, Fe, Cu, Ca, Sn aj.) mohou stabilizovat barvu produktů, ale také způsobit nežádoucí změnu zbarvení. Např. komplexy s cínem vznikající v konzervách mění červenou barvu plodů (např. jahod) na fialovou. [17]

2.3 Využití plodů pro potravinářské účely

Drobné ovoce se nejvíce konzumuje čerstvé nebo po krátkém uskladnění. Je však prvotřídní surovinou, z níž se dají vyrobit nejrůzněji produkty. Během konzervování se mohou některé původní obsahové složky změnit a vytvořit nový, ale nutričně i senzoricky žádoucí látkový komplex (termosterilizace, kvašení), anebo do značné míry zachovávat původní vlastnosti suroviny (opatrné sušení, zmrazování).

Aby se z drobného ovoce vyrobily kvalitní výrobky, je třeba používat zdravou, vyvinutou a kvalitní surovinu bez chorob a živočišných škůdců, ve správné technologické zralosti s přihlédnutím na charakter výrobku. Například jinou surovinu použijeme na výrobu kompotů a jinou k výrobě sirupů.

Roční spotřeba drobného ovoce na jednoho obyvatele (4,5 kg) u nás výrazně zaostává za vyspělými zeměmi a právě zvýšená konzumace konzervovaných výrobků může tuto hranici posunout výše. Průmyslově i v domácnosti lze vyrobit velmi kvalitní výrobky při respektování požadavků zdravé výživy a je možno tak pomoci omezit vysokou spotřebu sladkostí vyrobených na cukrové a cukrovo-tukové bázi.

Červené, černé a bílé rybízy se převážně využívají k výrobě tekutých a kašovitých výrobků (šťávy, vína, likéry, sirupy, protlaky, marmelády, rosoly apod.). Vhodné jsou velké bobule, zralé, zdravé a s nízkým podílem stopek. Na výrobu pomazánek a rosolů nemusí být plody úplně zralé. Rybíz můžeme také sušit a poté jej konzumovat jako čaj. [2]

- **Rybízové víno**

Dobře vyzrálé bobule se rozmělní a silně lisují. K 1 l šťávy z červeného rybízu se přidá 2,5 l vody a 655 g krystalového cukru. Voda se přidává tak, že na vytlačené matoliny se přidá tolik vody, kolik bylo získáno šťávy prvním lisováním, aby se ještě jednou vyluhovaly. Po několikahodinovém stání, při kterém se směsí několikrát zamíchá, se opět lisuje a získaná kapalina se přidá do původní šťávy, ke které se ještě přilije potřebné množství vody (do 2,5 litru na 1 litr původní šťávy). Cukr se dobře rozpustí v podílu přidané vody (nejlépe převařené, vlažné). Při přípravě vína z červeného rybízu je možno přidat také 10–20 % černého rybízu.

K 1 l šťávy z bílého rybízu se přidají 2 l vody stejným způsobem, jako při přípravě vína z červeného rybízu a 550 g krystalového cukru.

Takto připravené mošty se zakvasí kulturními kvasinkami. Po šesti týdnech se víno stahuje buď do jiného demižonu, nebo do lahví.

Šťáva z černého rybízu, jejíž příprava je obdobná jako u červeného rybízu, se k výrobě ovocného vína moc nehodí. Používá se jí k míchání s vínem z červeného rybízu, a to v poměru 3 dílů vína z červeného a 1 dílu vína z černého rybízu. [20]

- **Rybízový likér Crème de Cassis**

1 kg černého rybízu, 1 l červeného vína, na 1 l tekutiny je potřeba 800 g cukru, 400 ml konzumního lihu, 100 ml rumu.

Černý rybíz opraný a s otrhanými stopkami rozmačkáme v nádobě, zalijeme vínem a necháme stát na chladném místě 24 hodiny. Pak vše nalijeme na silonovou tkaninu upevněnou na vyšším hrnci a necháme volně překapat. Odměřenou tekutinu doplníme odváženým množstvím cukru a necháme přejít varem. Do vychladlé tekutiny vmícháme líh a rum a naplníme ji do lahví. [21]

Obrázek č. 12: Likér Crème de Cassis [22]

- **Rybízový rosol**

Na 1 kg šťávy je potřeba 400 g želírovacího cukru a 1/2 sáčku želírovacího přípravku.

Zralý i přezrálý červený rybíz opláchneme, odtrháme stopky, umeleme ho na mlýnku na ovoce a procedíme cedníkem, vyloženým bavlněnou tkaninou. Určité množství získané šťávy odvážíme a prudce vaříme, až se nejméně 1/3 odpaří. Potom postupně přidáváme cukr promíchaný s želírovacím přípravkem a znovu 5 až 7 minut prudce vaříme. Horký rosol naplníme do skleniček, upevníme je víčky a sterilujeme. Sklenice o objemu 200 ml se sterilují 10 minut při teplotě 85 °C. Po sterilaci skleničky obrátíme dnem vzhůru a necháme je vychladnout. Sklenice se skladují v chladu a temnu. [21]

Obrázek č. 13: Rybízový rosol [23]

- **Sirup z červeného rybízu**

Bobule červeného rybízu odstopkujeme, umyjeme, rozmačkáme, přidáme k nim trochu vody a necháme několik hodin naležet, aby barvivo ze slupek přešlo do šťávy. Při naležení necháme drť mírně nakvasit. Rybízovou šťávu poté přes gázu zlehka procedíme a vymačkáme. Chuť, barva i aroma se zlepšují přídavkem šťávy z černého rybízu. Na 1 kg šťávy je potřeba 1,6 kg cukru a 2 až 4 g kyseliny citrónové. Šťávu zahřejeme zhruba na 70 °C a přidáme na každý litr šťávy cukr a kyselinu citrónovou. Poté směs zahřejeme na 85 °C a za stálého míchání vaříme 15 minut. Během vaření se sbírá vytvořená pěna. Horká šťáva se plní do vyvařených lahví, které se poté dobře uzavřou. [24, 25]

- **Marmeláda z červeného rybízu**

Omytý rybíz prolisujeme. Na 1 kg protlaku odvážíme 400 g krystalového cukru. Nejdříve 10 minut vaříme jen protlak, potom přidáme cukr a vaříme až do zrosolovatění. Marmeládu naplníme do skleniček a ty se dobře uzavřou. [2]

Obrázek č. 14: Marmeláda z červeného rybízu [26]

- **Sušený rybíz** (především černý)

Otrhané bobule se osuší, v jedné vrstvě je rozprostřeme na pergamen a sušíme v troubě při teplotě 70 °C. Během sušení plody kontrolujeme a promícháváme. Po usušení uložíme rybíz do sklenic, které uzavřeme a uskladníme na suchém místě. Použít jej můžeme k vaření, pečení, do čaje i k přímé konzumaci. [2]

Obrázek č. 15: Sušený černý rybíz [27]

Další využití plodů rybízu

Červený rybíz se nejvíce používá na výrobu marmelád a rosolů. Plody bílého a červeného rybízu mají trpkou chuť, a proto se při výrobě jejich kompotů většinou míchají s jiným, méně kyselým, ovocem. Džus z bílého a červeného rybízu má příznivé účinky na tlumení horečky. Hlavně v Evropě je bílý rybíz používán i v dětské výživě, neboť má méně výraznou chuť než červený a černý rybíz. Ve Finsku je bílý rybíz zpracováván na vína i vína šumivá.

Listy a pupeny černého rybízu jsou bohaté na fenolové sloučeniny a již dlouho se používají jako bylinné léky. V Rusku se rybízové listy používají při výrobě bylinného čaje, který má podobnou chuť jako zelený čaj. V Evropě je velmi populární šťáva z černého rybízu, která se používá převážně k výrobě vín a likérů. Obvykle se šťáva z černého rybízu míchá s jinými ovocnými šťávami, aby se snížila její příliš výrazná chuť.

Vhodným způsobem konzervace rybízu je i mražení s následným mnohostranným použitím. Plody zejména černého rybízu se uplatňují jako příchuť zmrzlin, müsli, různých mléčných výrobků, např. jogurtů a jogurtových nápojů a také mohou být součástí přídavných látek do bonbonů a jiných sladkostí.

Černý rybíz je používán i ve farmaceutickém průmyslu ve formě produktů různých kapek, sirupů, tablet a to nejenom díky vysokému obsahu vitaminu C. Plody rybízu mají močopudný a potopudný účinek, aktivují látkovou výměnu, odbourávají z těla nežádoucí látky, zlepšují pružnost cév, jsou účinným lékem proti křečovým žilám a hemeroidům. Napomáhají při alergických kožních reakcích, střevních problémech a revmatismu. Příznivě působí při zánětech hrtanu a hltanu, mírní bolest v krku a posilují imunitní systém.

Extrakt z pupenů černého rybízu lze využívat také v kosmetice, v podobě parfémů a tělové kosmetiky. [28]

2.4 Metody stanovení anthokyanů

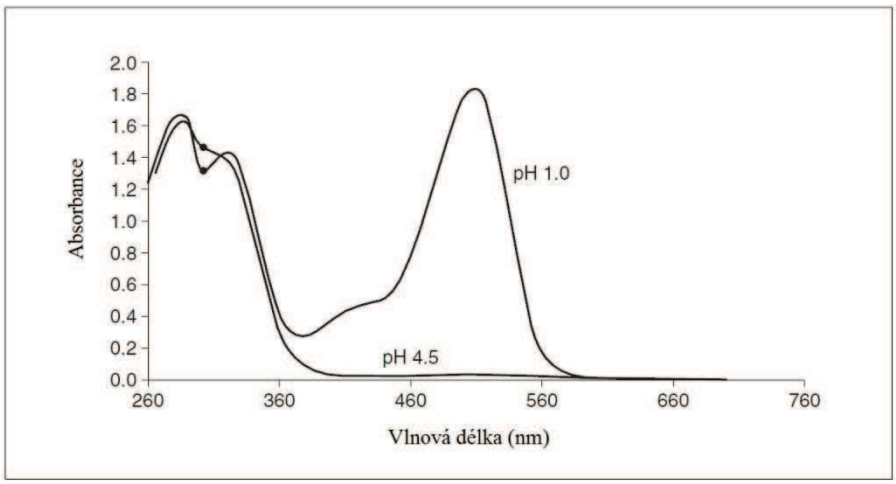
Obsah anthokyanových pigmentů má rozhodující vliv na barvu a kvalitu čerstvého a zpracovaného ovoce a zeleniny. Přesné stanovení anthokyanů spolu s jejich degradačními indexy je proto velmi užitečné v potravinářských technologiích k hodnocení kvality surovin a zpracovaných potravin. [29]

Metody stanovení anthokyanových pigmentů slouží k identifikaci nebo objasnění struktury jednotlivých anthokyanů. Jejich analýza je však poměrně složitá, protože mají podobnou strukturu jako jiné flavonoidy a při určitých podmínkách podléhají strukturním transformacím. [30]

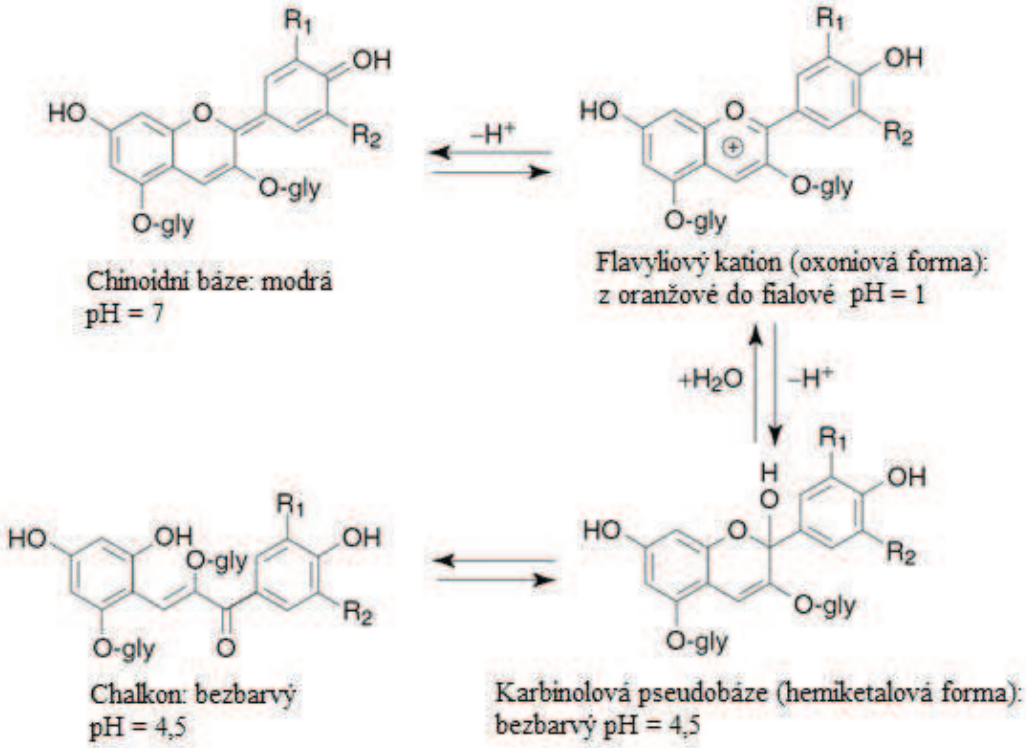
Spektrální charakteristika anthokyanů poskytuje velmi užitečné kvalitativní a kvantitativní informace o daném pigmentu. UV/VIS spektrofotometrie je, i díky své jednoduchosti a nízkým finančním nákladům, jednou ze základních technik využívaných k identifikaci anthokyanů. Další metodou stanovení je HPLC s detektorem s diodovým polem. Problémem je však získat referenční sloučeniny a značné nevýhody představují i spektrální podobnosti anthokyanů. Proto se pro identifikaci anthokyanů staly preferovanými technikami HPLC s UV detektorem, HPLC s hmotnostní detekcí a HPLC spojená s nukleární magnetickou rezonancí. [31]

2.4.1 pH-diferenciální metoda

Spektrofotometrická metoda stanovení koncentrace anthokyanových pigmentů se nazývá pH-diferenciální metoda. Tato metoda je založena na faktu, že anthokyanové pigmenty podléhají reverzibilní změně struktury se změnou pH, což se projevuje nápadně odlišnou absorbancí. Barevná oxoniová forma převažuje při pH 1,0 a bezbarvá hemiketalová forma při pH 4,5. pH-diferenciální metoda je založena na této reakci a umožňuje přesné a rychlé měření celkových anthokyanů a to i za přítomnosti polymerizovaných degradovaných pigmentů a dalších rušivých sloučenin. [29, 32]



Obrázek č. 16: Spektrální charakteristika čistého anthokyanu při pH pufrů 1,0 a 4,5 [29]
Jedná se o athokyan z ředkvičky - Pelargonidin-3-soforosid-5-glukosid



Obrázek č. 17: Převažující přítomné strukturální formy anthokyanů při různých hodnotách pH [29]

- **Molekulová absorpční spektrofotometrie v UV/VIS oblasti**

Spektrofotometrie patří mezi nejstarší a nejvyužívanější fyzikálně-chemické metody. Vyniká přesností, rychlostí, citlivostí a experimentální nenáročností. Jde o optickou metodu, založenou na sledování absorpce elektromagnetického záření v intervalu od 200 do 800 nm. Spektrofotometrie v UV/VIS slouží jako nejpoužívanější detektor pro HPLC a CZE. Měření lze realizovat v průtokovém uspořádání (CFA, FIA). Pro zvýraznění průběhu spektra se využívá rovněž derivační spektrometrie. [33]

2.4.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie je jednou z nejvýznamnějších moderních analytických metod. Umožňuje zejména dělení většiny organických látek. K dělení látek je možné využít všechny vratné dvoufázové separační mechanismy. Separace vzorku pomocí HPLC je obvykle spojena s elektrochemickou, spektrofotometrickou nebo hmotnostní detekcí jednotlivých složek. [33]

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je vysoce instrumentálně pokročilá technika kapalinové chromatografie. Vysoké účinnosti separačního procesu je dosaženo použitím kolon plněných stacionární fází o malé a dobře definované velikosti částic. Kolony pro HPLC se vyznačují vysokou hustotou a homogenitou náplně. Pro dosažení dostatečného průtoku je potřeba aplikovat tlak jednotek až desítek MPa. [33]

Princip chromatografického procesu

Kapalinovým chromatografem protéká mobilní fáze, která je ze zásobních lahví vedena přes vysokotlakou pumpu do kolony, dále do detektoru a odpadu. Dávkovacím ventilem je do proudu mobilní fáze nadávkován vzorek. Vzorek je poté unášen proudem mobilní fáze do chromatografické kolony. Na koloně se nejprve utvoří směsný eluční pás a poté dochází k separaci jednotlivých složek směsi. Po výstupu látky z kolony indikuje detektor její přítomnost v eluátu. Signál z detektoru je zaznamenáván pomocí počítače a zpracován v podobě chromatogramu. [33, 34]

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie anthokyanů používá reverzních fází (RPC). Použité stacionární fáze mají nepolární charakter a mobilní fáze má polární charakter. Stacionární fázi často tvoří reverzní sorbent C18, který má na povrchu silikagelového porézního jádra navázány alkylové řetězce s 18 uhlíky. Omezením silikagelových kolon je poměrně úzká oblast pH (2 až 7), ve které jsou tyto kolony stabilní. Proto se dnes více používají polymerní náplně kolon, které jsou stabilní v širším rozsahu pH. Mobilní fází je obvykle gradient, jehož základ tvoří voda, kyselina a organický modifikátor. Nejčastěji používané kyseliny jsou fosforečná, chloristá, octová a mravenčí. Malé množství kyseliny je nezbytné pro stabilizaci anthokyanů a tvorbu ostrých píků. Nejběžnější organický modifikátor je methanol nebo acetonitril. V chromatografii s reverzními fázemi, retenční čas analytů klesá s jejich rostoucí polaritou, která odpovídá vzrůstajícímu počtu hydroxylových skupin na flavyliovém iontu. V kyselém prostředí je flavyliový kation zbarvený do červena a poskytuje charakteristické absorpční maximum při 520 nm. Při této hodnotě nedochází k ovlivňování jinými fenolovými sloučeninami přítomnými v rostlinném extraktu. [30]

2.4.3 HPLC s UV detektorem

Nejčastěji používaná detekční metoda pro HPLC je UV/VIS spektrofotometrie. Anthokyany mají specifické absorpční maximum při 520 nm, které staví tyto sloučeniny stranou od ostatních flavonoidů. Spektrální charakteristiky jednotlivých anthokyanů souvisí s hydroxylovými skupinami na aglykonové struktuře. [30]

2.4.4 HPLC s hmotnostní detekcí

Analýza anthokyanů pomocí hmotnostní detekce (MS) byla provedena hlavně pro objasnění jejich struktury. Spojení techniky vysoko účinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektroskopií (HPLC/MS) se stalo v posledním desetiletí velmi používanou a výkonnou identifikační metodou anthokyanů. [31]

Hmotnostní spektroskopie je citlivá metoda molekulární analýzy. Poskytuje výborné selektivní a identifikační výsledky jednotlivých sloučenin ve směsi. Analýza specifických typů sloučenin vyžaduje vhodnou ionizační techniku pro převedení molekulárního iontu do přístroje. Bylo vyvinuto mnoho ionizačních metod pro netěkavé nebo termodynamicky nestabilní vzorky anthokyanů. K nejvhodnějším ionizačním technikám pro anthokyany se řadí ionizace ostřelováním vzorku rychlými atomy (FAB), ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI), chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI) a elektrosprejem nebo termosprejem (ESI). Tyto techniky zabraňují těkavosti a následné ionizaci a dodávají energii do pevného nebo kapalného vzorku takovým způsobem, aby byly přímo tvořeny plynné ionty. Důsledkem toho, lze získat velmi zjednodušená spektra. [30, 31]

Dnes je nejvíce využívaná metoda HPLC/MS/ESI. ESI je mírná ionizační metoda. Převodu iontů z kapalné fáze do vakua je dosaženo rychlým odsušením mikrokapiček. Je-li proces odsušení dostatečně rychlý, povrchový náboj kapének postačí k převodu iontů z roztoku do vakua bez nutnosti dodání vnější energie. Metoda je vhodná pro malé rostlinné metabolity jako jsou právě anthokyany. Z hmotnostních analyzátorů se používá průletový analyzátor (TOF), kvadrupólový hmotnostní filtr a nebo kvadrupólová hmotnostní past.
[30, 33]

2.4.5 HPLC spojená s nukleární magnetickou rezonancí

Nukleární magnetická rezonance (NMR) spojená s HPLC je používána pro objasnění struktury anthokyanů. Pro objasňování struktur neznámých sloučenin v surovém rostlinném extraktu je toto spojení efektivnější než HPLC/UV/VIS nebo HPLC/MS. [30, 31]

V současnosti je HPLC/NMR metoda omezena jen na 1H NMR spektra nebo 13C NMR spektra. Měření 1H spektra může probíhat za konstantního průtokového režimu. Tento režim vyžaduje vcelku vysoké koncentrace rostlinného extraktu. Spektrum se získává plynule během separace a poskytuje 2-D NMR spektrum s nízkou citlivostí. Pro preciznější měření je výhodnější režim se stopováním průtoku, který zastaví tok rozpouštědla na krátký čas. [30]

2.4.6 Kapilární elektroforéza

Díky vysoké rozpustnosti anthokyanů ve vodě je kapilární elektroforéza (CE) vhodnou technikou pro dělení, identifikaci a kvantifikaci anthokyanů. První anthokyanová analýza pomocí kapilární elektroforézy byla provedena v roce 1996. Při této analýze byla použita tavená křemenná kapilára, boritanový pufr (pH 8) a detektor s diodovým polem. [31]

K separaci organických látek se běžně používá pět typů kapilární elektroforézy a nejvíce využívanou metodou je zónová kapilární elektroforéza (CZE). CZE vyniká svou hmotnostní citlivostí, vysokým rozlišením, nízkou spotřebou vzorku a minimální produkcí odpadu.

Molekuly se separují na základě dvou transportních jevů, a to elektroforetické migrace iontů a elektroosmotického toku kapaliny. Elektroforetická migrace je pohyb nabitých molekul v elektrickém poli. Elektroosmotický tok je tok elektrolytu způsobený nábojem vnitřní stěny kapiláry a aplikovaným potenciálem. Různé molekuly se pohybují různou rychlostí a různými směry podle poměru velikosti své hmoty a svého náboje. K separaci neutrálních molekul nedochází, nýbrž jsou unášeny jako jeden pás. Metoda je tedy použitelná pouze pro analýzu nabitých částic. [30, 33]

Zařízení pro CZE se skládá ze dvou nádobek na elektrolyt, tavené kapilární křemenné trubice, zdroje napětí a detektoru. Vzorek je vnesen do kapilární trubice k anodě a mobilní fáze může pohybovat s některými komponentami směrem ke katodě, zatímco jiné jsou zadržovány vzadu u anody. [30]

V dnešní době se separují anthokyany metodou, která používá jako základní elektrolyt tetraboritanový pufr o pH = 8,4 s 15 objemovými procenty methanolu. Methanol zde působí jako modifikátor, který zvyšuje citlivost metody. Separace molekul probíhá za kladného polárního režimu a kladného elektroosmotického toku s tokem molekul ve směru od anody ke katodě. Analyty jsou sledovány UV/VIS detektorem při vlnové délce 599 nm. Elektrochromatogram poskytuje modré chinoidalové formy anthokyanů. Pro kvantitativní účely stanovujeme kalibrační křivku používající malvidin-3-glukosid jako standart. [30]

Použitelnost zásaditého základního elektrolytu je limitována nestabilitou anthokyanů v bazickém prostředí. Je proto výhodnější použít pro separaci anthokyanů kyselý elektrolyt a nastavit separační systém na opačný program, tedy pohyb molekul od katody k anodě. Kyselé prostředí zajišťuje setrvání anthokyanů ve flavyliových formách. [30]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Stanovení anthokyanů v plodech rybízu pH diferenciální metodou

3.1.1 Použité pomůcky a přístroje

Pomůcky

- běžné laboratorní sklo
- třecí miska s tloučkem
- gáza
- mikrozkumavky
- filtrační papír (Papírny Perštejn, Česká republika)
- automatická pipeta 200 µl, 1000 µl (Biohit, Finsko)

Přístroje

- lednička s mrazničkou Amica AD 250
- analytické váhy HR-120-EC (A&D Instruments LTD, Japonsko)
- pH metr MPH 372 (Monokrystaly, Česká republika)
- laboratorní centrifuga
- UV/VIS spektrofotometr Helios γ (Spectronic Unicam, USA)

3.1.2 Použité chemikálie

- chlorid draselný p.a. (Lachema, Česká republika)
- sodná sůl kyseliny ethanové p.a. (Lachema, Česká republika)
- disiřičitan draselný (Lachema, Česká republika)
- kyselina chlorovodíková (Lach:ner, Česká republika)

3.1.3 Příprava roztoků

- Příprava 0,025 M pufru chloridu draselného o pH 1,0

Na analytických vahách bylo naváženo přibližně 0,465 g chloridu draselného. Navážka byla kvantitativně převedena do kádinky a rozpuštěna ve 180 ml destilované vody. Pomocí pH metru bylo měřeno pH roztoku, které bylo upraveno koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na požadované pH 1,0. Roztok byl poté převeden do odměrné baňky o objemu 250 ml a byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

- Příprava 0,4 M pufru ethanoátu sodného o pH 4,5

Na analytických vahách bylo naváženo přibližně 13,607 g pevného octanu sodného. Navážka byla kvantitativně převedena do kádinky a rozpuštěna ve 180 ml destilované vody. Pomocí pH metru bylo měřeno pH roztoku, které bylo upraveno koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na požadované pH 4,5. Roztok byl poté převeden do odměrné baňky o objemu 250 ml a byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

- Příprava roztoku disiřičitanu draselného

Na analytických vahách byl odvážen 1,0 g disiřičitanu draselného. Navážka byla kvantitativně převedena do zkumavky a rozpuštěna v 5 ml destilované vody.

3.1.4 Příprava šťávy z plodů červeného a černého rybízu

Na analytických vahách bylo naváženo 57 g zmražených plodů červeného rybízu a 36 g zmražených plodů černého rybízu. Navážka plodů červeného rybízu byla zhomogenizována v třecí misce a vyloučená šťáva byla přefiltrována přes gázu do kádinky. Filtrát byl odstředěn na laboratorní centrifuze. Odstředěná šťáva byla pipetována do připravených mikrozkumavek. Tímto postupem byla připravena i šťáva z černého rybízu. Z 57 g zmražených plodů červeného rybízu bylo získáno 37,5 ml šťávy a z 36 g zmražených plodů černého rybízu bylo získáno 13,4 ml šťávy. Získaná šťáva z obou druhů rybízů byla rozdělena do mikrozkumavek a ty byly skladovány při třech teplotách: při laboratorní teplotě 23 °C, v ledničce při teplotě 8 °C a v mrazáku při teplotě -18 °C.

3.1.5 Příprava vzorků

Vzorek šťávy z černého a červeného rybízu byl ředěn pufrem chloridu draselného na celkový objem 3 ml. Postupným proměřením absorbance vzorku při maximální vlnové délce 510 nm byl stanoven vhodný faktor ředění. Objem šťávy vzorku byl u černého rybízu stanoven na 25 µl a u červeného rybízu na 150 µl.

Jedna sada vzorků u černého i červeného rybízu, pro jednu teplotu, obsahovala vždy čtyři zředěné vzorky. Jeden s pufrem chloridu draselného, druhý s pufrem octanu sodného a zbylé dva vzorky byly naředěny destilovanou vodou. Každý vzorek byl doplněn na celkový objem 3 ml. U vzorků ředěných destilovanou vodou bylo odebráno 200 µl a k jednomu z nich bylo napipetováno 200 µl destilované vody, k druhému bylo napipetováno 200 µl činidla disiřičitanu draselného.

3.1.6 Měření absorpčního spektra anthokyanů při různém pH

Změřením absorpčního spektra anthokyanů při pH pufrů 1,0 a 4,5 byl ověřen rozsah vlnových délek v UV/VIS oblasti, při kterých hodnota absorbance měřených vzorků u červeného a černého rybízu dosáhla maximálních hodnot. K měření absorpčního spektra byly připraveny vzorky ředěné pufrem chloridu draselného a octanu sodného stejným způsobem jako v kapitole 3.1.5. Pomocí UV/VIS spektrofotometru Helios bylo proměřeno absorpční spektrum připravených vzorků v rozmezí vlnových délek 350–720 nm. Maximální hodnoty absorbancí vzorků byly zjištěny při vlnových délkách kolem 420 nm a 510 nm, což odpovídá hodnotám maximálních absorbancí pro anthokyany obsažené v rybízech.

3.1.7 Měření absorbance vzorků

Pomocí UV/VIS spektrofotometru Helios byly měřeny absorbance připravených vzorků při vlnových délkách 510 nm a 700 nm. Při vlnové délce 420 nm byly měřeny pouze vzorky ředěné vodou. Jako srovnávací roztok byla použita destilovaná voda.

3.1.8 Měření absorbance vzorků připravených ze zahřáté šťávy

Šťáva z plodů červeného a černého rybízu byla připravena stejným způsobem jako v kapitole 3.1.4. Získaná šťáva z rybízů byla zahřívána na vodní lázni při teplotě 80 °C. Po třiceti sekundách zahřívání bylo část šťávy odebráno a zbylá šťáva byla dále zahřívána na celkový čas pěti minut.

Byly připraveny vzorky pro červený a černý rybíz ze šťávy zahřáté na 30 sekund a ze šťávy zahřáté na 5 minut stejným způsobem jako v kapitole 3.1.5. U těchto vzorků byla proměřena absorbance při vlnových délkách 510 nm a 700 nm. Při vlnové délce 420 nm byly měřeny pouze vzorky ředěné vodou. Jako srovnávací roztok byla použita destilovaná voda.

3.1.9 Stanovení celkového zastoupení anthokyanových barviv v plodech rybízu

Z naměřených hodnot absorbancí vzorků černého i červeného rybízu byl vypočten obsah monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu v plodech rybízu. Výsledné hodnoty koncentrací vzorků v mg/l byly přepočteny na mg/100 g, což je nejběžněji uváděná jednotka obsahu anthokyanů v čerstvých plodech ovoce. Z naměřených hodnot absorbancí vzorků černého i červeného rybízu bylo dále vypočteno procentuální zastoupení polymerní barvy pigmentů ve vzorcích. Hodnoty koncentrace monomerního barviva i procentuální hodnoty polymerní barvy pigmentů ve vzorcích byly stanoveny pomocí následujících vztahů:

- absorbance ředěných vzorků

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1,0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4,5}, \qquad (1)$$

kde A je absorbance vzorku při dané vlnové délce a pH roztoku.

- koncentrace monomerního pigmentu v původním vzorku

$$c_{MP} = \frac{A \cdot MW \cdot DF \cdot 1000}{\varepsilon \cdot l}, \qquad (2)$$

kde c_{MP} je výsledná koncentrace monomerního pigmentu $(mg \cdot l^{-1})$, A je absorbance zředěného vzorku, MW je molekulová hmotnost pigmentu kyanidin-3-glukosid, DF je faktor ředění, ε je molární absorpční koeficient pro kyanidin-3-glukosid $(l \cdot mg^{-1} \cdot cm^{-1})$, konstanta pro danou látku za daných podmínek při určité vlnové délce, l je tloušťka absorbující vrstvy (cm), většinou tloušťka kyvety.

- sytost barvy kontrolního vzorku

$$\text{Sytost barvy} = \left[(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{510nm} - A_{700nm})\right] \cdot DF, \qquad (3)$$

kde sytost barvy je intenzita barvy vzorku ředěného pouze destilovanou vodou, DF je faktor ředění.

- polymerní barva vzorku s činidlem disiřičitanu draselného

$$\text{Polymerní barva} = \left[(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{510nm} - A_{700nm})\right] \cdot DF, \qquad (4)$$

kde polymerní barva je intenzita barvy vzorku s přídavkem bělícího činidla disiřičitanu draselného, DF je faktor ředění.

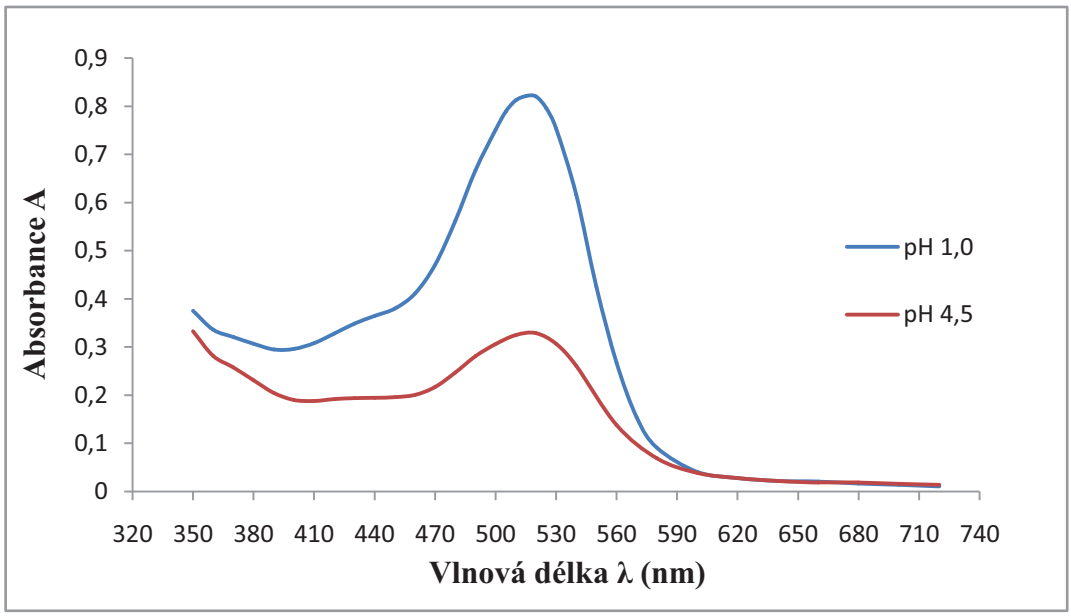
- procentuální zastoupení polymerní barvy pigmentu

$$\% = \frac{\text{polymerní barva}}{\text{sytost barvy}} \cdot 100 \qquad (5)$$

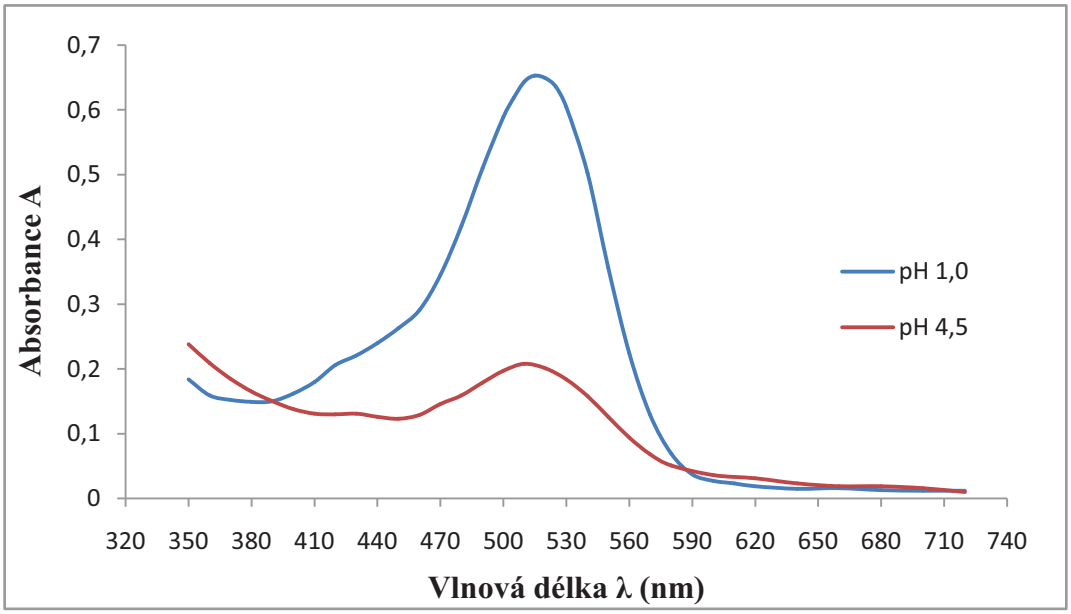
4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Stanovení anthokyanů v plodech černého a červeného rybízu bylo provedeno podle návodu uvedeného v *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* [29], podle kapitoly 3.1.9.

4.1.1 Absorpční spektra anthokyanů při pH 1 a 4,5



Obrázek č. 18: Absorpční spektrum anthokyanů v červeném rybízu



Obrázek č. 19: Absorpční spektrum anthokyanů v černém rybízu

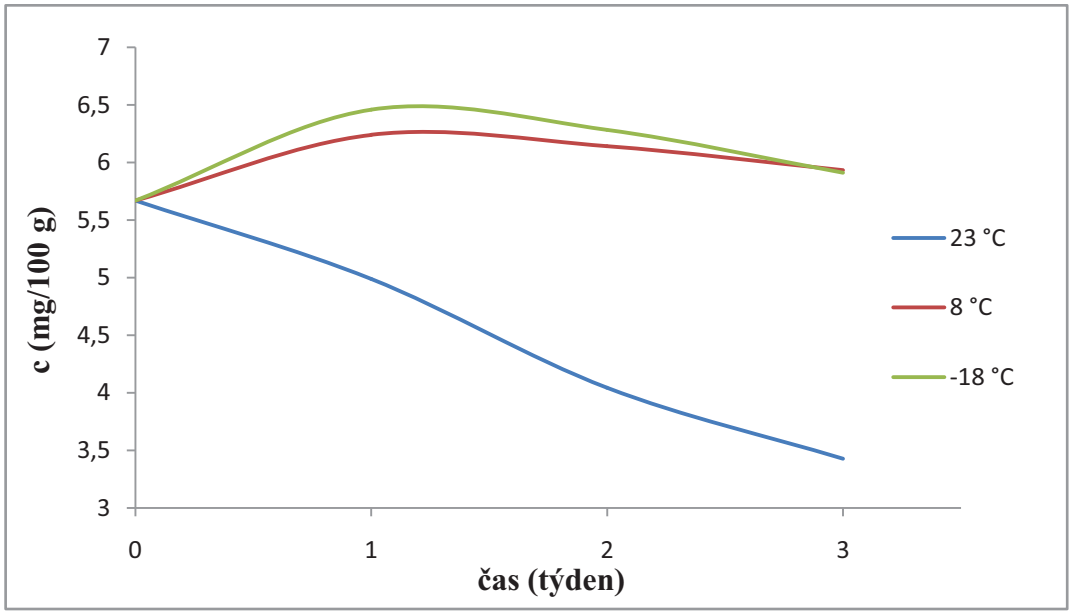
Maximální hodnoty absorbancí vzorků byly zjištěny při vlnových délkách kolem 420 nm a 510 nm, což odpovídá hodnotám maximálních absorbancí pro anthokyany obsažené v rybízech.

4.1.2 Výsledné naměřené a vypočtené hodnoty a závislosti

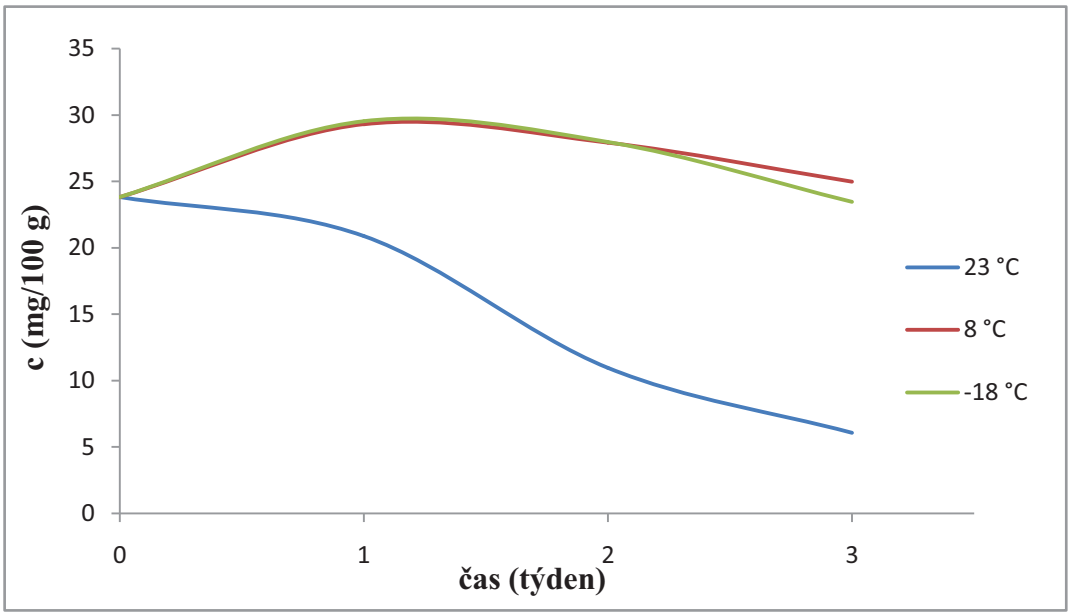
Absorbance vzorků červeného a černého rybízu byly měřeny vždy při dané teplotě uskladnění rybízové šťávy a také v závislosti na době jejího uskladnění a to vždy po týdnu, po dobu třech týdnů.

Tabulka č. 7: Hodnoty množství monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve sto gramech čerstvých plodů rybízu

Obsah kyanidin-3-glukosidu (mg/100 g)				
rybíz	doba uskladnění	teplota uskladnění		
		23 °C	8 °C	-18 °C
červený	1. týden	5,0	6,2	6,5
	2. týden	4,0	6,1	6,3
	3. týden	3,4	5,9	5,9
černý	1. týden	20,9	29,3	29,5
	2. týden	11,0	27,9	28,0
	3. týden	6,1	25,0	23,5



Obrázek č. 20: Závislost obsahu monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu na době uskladnění šťávy z červeného rybízu

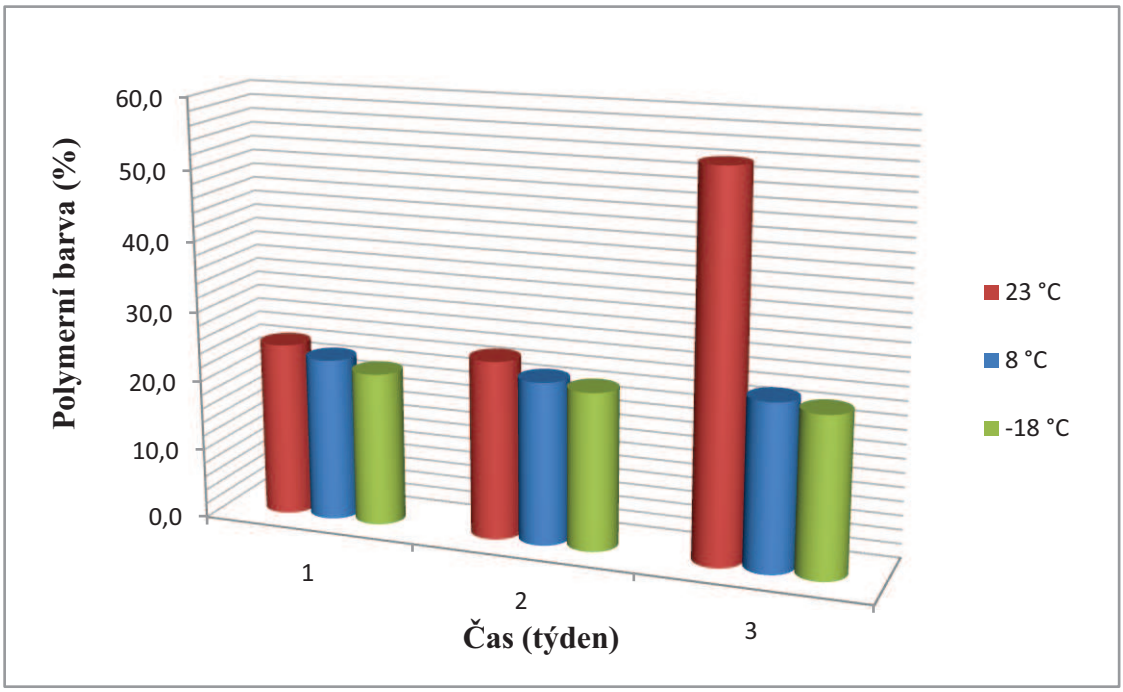


Obrázek č. 21: Závislost obsahu monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu na době uskladnění šťávy z černého rybízu

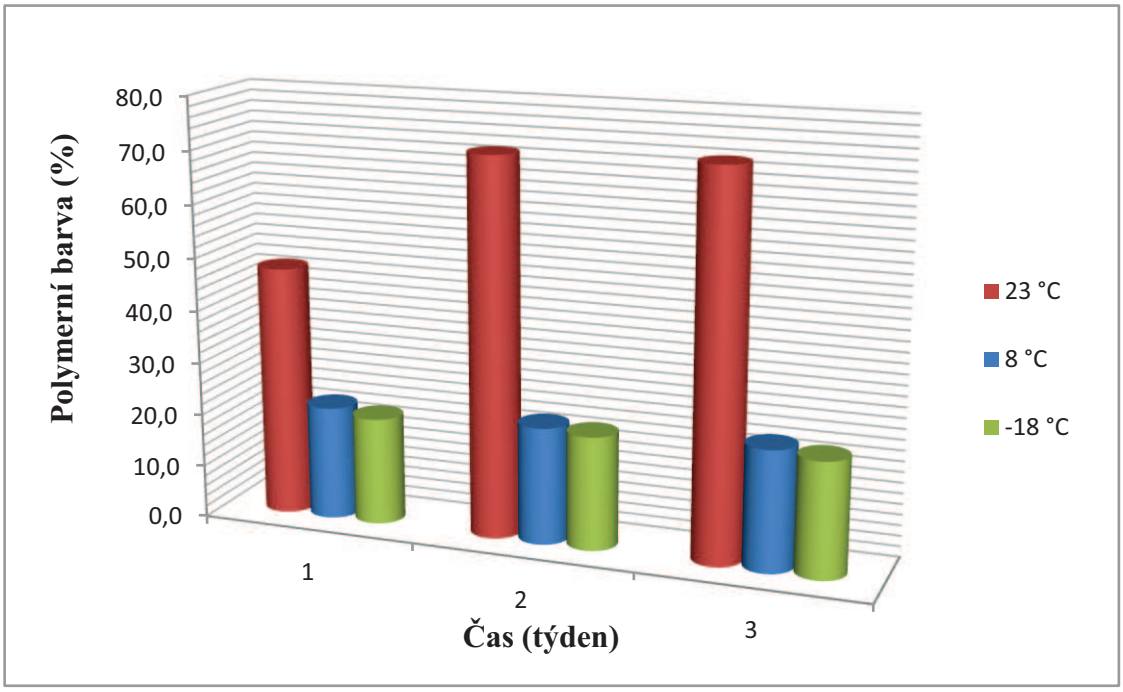
Koncentrace monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu se ve vzorku s delší dobou uskladnění šťávy červeného i černého rybízu snižuje. V prvním týdnu uskladnění šťávy z černého rybízu byl obsah monomerních pigmentů vyšší, než byla počáteční koncentrace pigmentů ve šťávě. Po dalším týdnu lze však pozorovat ze závislosti koncentrace na době uskladnění šťávy opět klesající trend.

Tabulka č. 8: Hodnoty procentuálního zastoupení polymerní barvy pigmentů ve vzorcích

Polymerní barva pigmentů (%)				
rybíz	doba uskladnění	teplota uskladnění		
		23 °C	8 °C	-18 °C
červený	1. týden	24,8	23,2	21,9
	2. týden	25,4	23,2	22,5
	3. týden	54,2	23,7	22,8
černý	1. týden	47,4	21,5	20,3
	2. týden	71,3	22,1	21,5
	3. týden	72,2	22,8	21,8



Obrázek č. 22: Závislost procentuálního zastoupení polymerní barvy pigmentů na době uskladnění šťávy z červeného rybízu



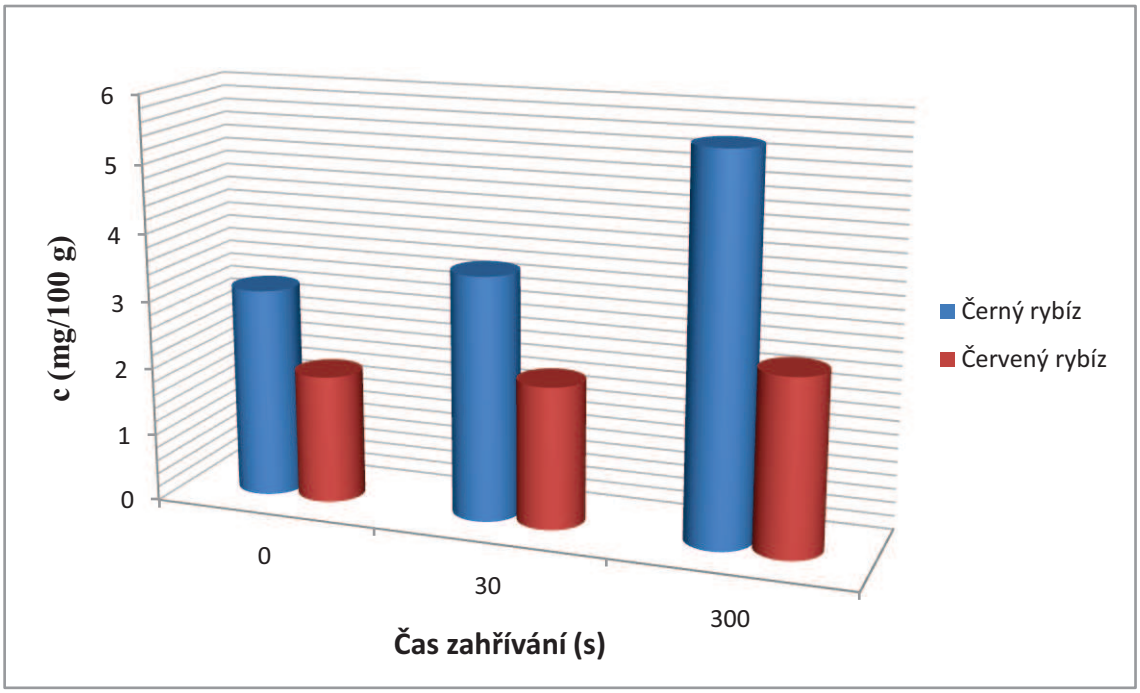
Obrázek č. 23: Závislost procentuálního zastoupení polymerní barvy pigmentů na době uskladnění šťávy z černého rybízu

Obsah polymerní barvy pigmentů se ve vzorku s delší dobou uskladnění šťávy červeného i černého rybízu zvyšuje. U vzorků připravených ze šťávy uchovávané při laboratorní teplotě 23 °C lze pozorovat výraznější zvýšení obsahu polymerních anthokyanů s delší dobou skladování šťávy. U vzorků připravených ze šťáv uchovávaných při nižších teplotách, nedocházelo s délkou uskladnění šťávy k žádným významným změnám v obsahu polymerních anthokyanových barviv.

Absorbance vzorků červeného a černého rybízu byly měřeny hned po přípravě rybízové šťávy a také po jejím zahřívání při teplotě 80 °C.

Tabulka č. 9: Hodnoty množství monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve sto gramech čerstvých plodů rybízu

Obsah kyanidin-3-glukosidu (mg/100 g)			
rybíz	doba zahřívání šťávy		
	bez zahřívání	30 s	300 s
červený	1,9	2,1	2,6
černý	3,1	3,6	5,6

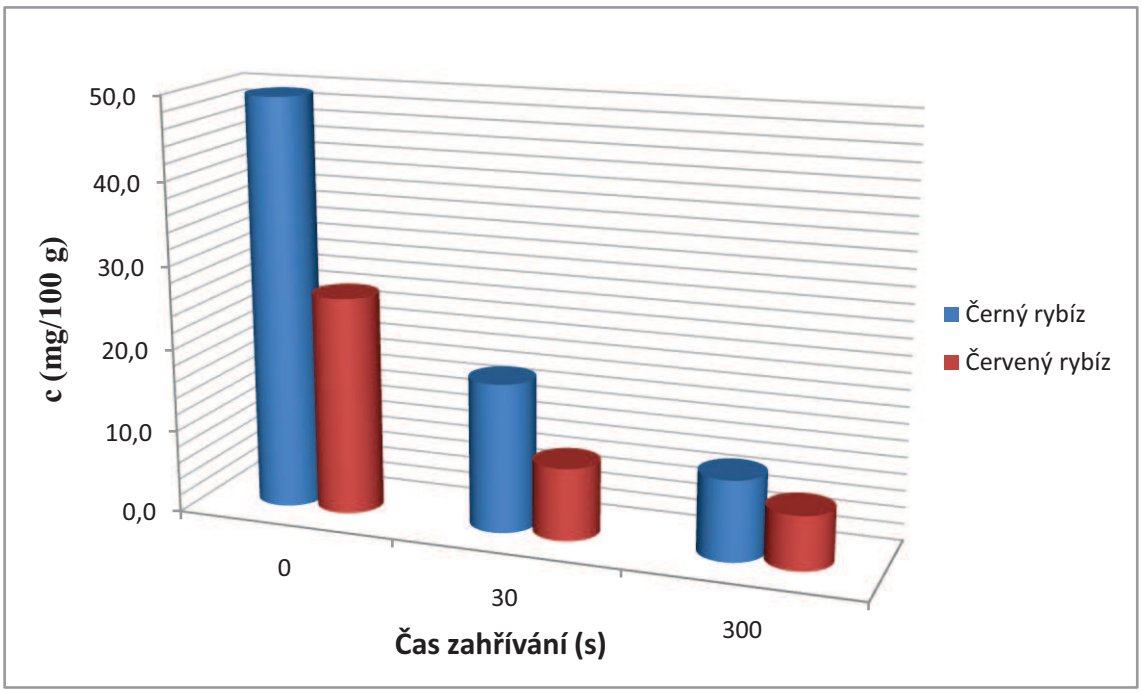


Obrázek č. 24: Závislost obsahu monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu na době zahřívání šťávy z černého a červeného rybízu

Koncentrace monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu se ve vzorku s delší dobou zahřívání šťávy červeného i černého rybízu zvyšuje. U vzorků ze šťávy z černého rybízu lze pozorovat výraznější zvýšení obsahu monomerních anthokyanů než v případě červeného rybízu.

Tabulka č. 9: Hodnoty procentuálního zastoupení polymerní barvy pigmentů ve vzorcích

Polymerní barva pigmentů (%)			
rybíz	doba zahřívání šťávy		
	bez zahřívání	30 s	300 s
červený	26,3	8,7	6,5
černý	49,5	17,9	9,7



Obrázek č. 25: Závislost procentuálního zastoupení polymerní barvy pigmentů na době zahřívání šťávy z černého a červeného rybízu

Obsah polymerní barvy pigmentů se ve vzorku s delší dobou zahřívání šťávy červeného i černého rybízu snižuje. U vzorků ze šťávy z černého rybízu lze pozorovat výraznější snížení obsahu polymerních anthokyanů než v případě červeného rybízu.

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo informovat laickou a odbornou veřejnost o nutričně velmi hodnotném zástupci drobného ovoce – rybízu. V úvodu teoretické části práce byl charakterizován rod *Ribes*. Kapitola popisuje význam a uplatnění rybízu, jeho historii ve světě i na českém území. Dále je zde popsána rostlina z botanického hlediska a jsou zde uvedeny odrůdy rybízů a také jeho choroby a škůdci. Pozornost je věnována i produkci a spotřebě rybízu v České republice.

Další část se zabývá účinnými látkami obsaženými v plodech rybízu. Hlavní pozornost byla zaměřena na flavonoidní látky, konkrétně anthokyany, u nichž byly popsány: struktura, fyziologie, použití, vlastnosti a jejich reakce.

Následující kapitola se zabývá využitím plodů rybízu zejména v potravinářském průmyslu. Plody rybízu jsou vysoce kvalitní surovinou, vhodnou pro výrobu širokého sortimentu konzervárenských výrobků, např. sirupů, džemů, kompotů, rosolů, dětské výživy i celé škály mrazírenských výrobků a nealkoholických i alkoholických nápojů. Rybíz lze využít i v oblasti farmaceutické a kosmetické.

Závěrečná kapitola teoretické části se zaměřuje na metody stanovení anthokyanů v plodech rybízu. Byly popsány pH diferenciální metoda, HPLC, HPLC s UV detektorem, HPLC s hmotnostní detekcí, HPLC spojená s nukleární magnetickou rezonancí a novější metoda stanovení kapilární elektroforézou.

Experimentální část je věnována stanovení anthokyanových barviv v plodech červeného a černého rybízu, provedeného podle návodu uvedeného v *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Cílem experimentální části bylo stanovit a porovnat obsah monomerních a polymerních anthokyanů v plodech červeného a černého rybízu. Ke stanovení barviv byla použita pH diferenciální metoda.

Vzorky červeného a černého rybízu používané pro měření absorbancí byly uchovávány při třech různých teplotách: při laboratorní teplotě 23 °C, v ledničce při teplotě 8 °C a v mrazáku při teplotě -18 °C. Absorbance těchto vzorků byly měřeny vždy při různém pH, při dané teplotě uskladnění vzorků a také v závislosti na době jejich uskladnění: vždy po týdnu, po dobu třech týdnů. Z naměřených absorbancí vzorků lze v plodech rybízu, pomocí vztahů pro absorbance ředěných vzorků, sytosti barvy a polymerní barvy, stanovit obsah monomerního pigmentu a procentuální zastoupení polymerních anthokyanů. Monomerní pigment v obou druzích rybízu byl vyjádřen jako kyanidin-3-glukosid, neboť je to nejvíce zastoupený monomerní anthokyan v rybízech.

- Ze závislosti koncentrace monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve vzorku na době uskladnění vzorků (*Obrázek č. 20, 21*) je patrné, že se s delší dobou uskladnění vzorků jak červeného, tak i černého rybízu snižuje obsah monomerního pigmentu. Naopak, jak je patrné ze závislosti procentuálního obsahu polymerní barvy ve vzorku na době uskladnění vzorků (*Obrázek č. 22, 23*), se obsah polymerních barviv u červeného i černého rybízu s delší dobou uskladnění vzorků zvyšuje.

- Obsah monomerního pigmentu u vzorků červeného i černého rybízu, se při laboratorní teplotě snižuje výrazněji, než v případě uskladnění vzorků při nižších teplotách, u nichž nedochází k žádným výrazným změnám. Ve 100 g plodů černého rybízu je obsaženo, zhruba o 20 %, více monomerního pigmentu, než ve 100 g plodů červeného rybízu. Vzorky uskladněné při nižších teplotách obsahují, vždy v určitém časovém období, vyšší obsah monomerního barviva, než vzorky uskladněné při normální teplotě.

- Obsah polymerní barvy pigmentů u vzorků červeného i černého rybízu, se při laboratorní teplotě zvyšuje výrazněji, než v případě vzorků uskladněných při nižších teplotách, u kterých dochází pouze k minimálním změnám. Černý rybíz uchovávaný při laboratorní teplotě obsahuje zhruba o 40 % více polymerních barviv, než rybíz červený. Vzorky uskladněné při nižších teplotách obsahují, vždy v určitém časovém období, nižší obsah polymerního barviva, než vzorky uskladněné při normální teplotě a v černém rybízu je jejich obsah nepatrně vyšší.

Obsah anthokyanů v plodech rybízu byl stanoven také ve vzorcích, které byly připraveny ze zahřívané šťávy při teplotě 80 °C.

- Ze závislosti koncentrace monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve vzorku na době zahřívání šťávy (*Obrázek č. 24*) je patrné, že se s delší dobou zahřívání šťávy červeného i černého rybízu zvyšuje obsah monomerního pigmentu. Naopak, jak lze pozorovat ze závislosti procentuálního obsahu polymerní barvy na době zahřívání vzorků (*Obrázek č. 25*), se obsah polymerních barviv u červeného i černého rybízu s delší dobou zahřívání šťávy snižuje. Vzorky černého rybízu připravené ze zahřáté i nezahřáté šťávy, obsahují více monomerních i polymerních barviv zhruba o 50 %, než vzorky červeného rybízu.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

[1] *Welcome to the PLANTS Database: USDA PLANTS* [online]. Last revision 2009 [cit. 2011-11-06]. Classification.
Dostupné z: http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=RIBES.

[2] HRIČOVSKÝ, I.: *Drobné ovoce: a méně známé druhy ovoce*. 1. vyd. Bratislava: Vydavateĺstvo Príroda s. r. o., 2002. 102 s. ISBN 80-07-01004-1.

[3] HARANT, M., ZACHA, V.: *Pěstujeme bobuloviny*. 1. vyd. Praha: SZN, 1974. 258 s.

[4] NEČAS, T., KRŠKA, B., ONDRÁŠEK, I.: *Multimediální učební texty ovocnictví* [online]. Poslední revize 2004 [cit. 2011-11-15]. Ovocnictví I.
Dostupné z: http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav_551/eltronic_ovoc/_private/ovoc_1/data/rybiz.pdf.

[5] HRIČOVSKÝ, I.: *Rybíz, angrešt na zahrádce*. 1.vyd. Praha: SZN, 1988. 52 s.

[6] *Flora Price* [online]. Last revision 07. 10. 2010 [cit. 2011-11-24]. Raznocvetnaya-smorodina. Dostupné z: http://www.floraprice.ru/2010/10/raznocvetnaya-smorodina/.

[7] *Atlas-rostlin* [online]. Poslední revize 12. 08. 2003 [cit. 2011-11-24]. Dostupné z: http://www.atlas-roslin.pl/gatunki/Ribes_petraeum.htm.

[8] *Zahrady: Dobrkovský s.r.o.*[online]. [cit. 2011-11-24]. Ovocné stromy. Dostupné z: http://www.zahrady-dobrkovsky.cz/rybizy/160-rybiz-cerny-ribes-nigrum-stromek.html.

[9] *Lewis and Clark Herbarium* [online]. Philadelphia: Last revision1999 [cit. 2011-11-24]. Plants collected by Lewis and Clark.
Dostupné z: http://www.plantsystematics.org/reveal/pbio/LnC/LnCpublic8.html.

[10] PETRŽELOVÁ, I., SEDLÁŘOVÁ, M.: *Choroby ovocných dřevin* [online]. Poslední revize 2006 [cit. 2011-02-06].
Dostupné z: botany.upol.cz/prezentace/sedlarova/FP-spec_2006.doc.

[11] *Agromanual* [online]. Poslední revize 2008 [cit. 2011-02-06]. Atlas.
Dostupné z: http://www.agromanual.cz/cz/atlas.

[12] *Choroby a škůdci ovoce a zeleniny* [online]. Poslední revize 2008 [cit. 2011-02-06]. Choroby ovoce a zeleniny. Dostupné z: http://zahrada.mysteria.cz/plisens.html.

[13] *Ekologické zemědělství: Zemědělství, eAGRI* [online]. Poslední revize 7. 12. 2010 [cit. 2011-03-14]. Rostlinné komodity.
Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/91448/SVZ_Ovoce_2010.pdf.

[14] *Centrum pro databázi složení potravin: Databáze složení potravin ČR, verze 2.11* [online]. [cit. 2011-04-23]. Potraviny. Dostupné z: http://www.czfcdb.cz/potraviny/.

[15] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin I.* 3. vyd. Tábor, CZ: OSSIS, 2009. 602 s. ISBN 978-80-86659-15-2.

[16] VELÍŠEK, J., CEJPEK, K.: *Biosynthesis of Food Components*. 1. ed. Tábor, CZ: OSSIS, 2008. 512 p.

[17] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin II.* 3. vyd. Havlíčkův Brod: OSSIS, 2009. 644 s. ISBN 978-86659-16-9.

[18] KYZLINK, V.: *Skladování a zpracování zahradnických plodin.* Praha: Skriptum, 1968. 217 s

[19] STRATIL, P.: *Share.centrax* [online]. 05. 01. 2011 [cit. 2011-03-26]. CPO-9-12_Barviva_v_potravinach,_str_306-336.pdf. Dostupné z: http://cellbiologyolm.stevegallik.org/node/89.

[20] ŠPERGL, L.: *Původní technologie výroby likérů, lihovin, piva, vína* [online]. Poslední revize 5. 8. 2010 [cit. 2011-03-26]. Ovocné víno. Dostupné z: http://www.tech-info.cz/vino-recept.html.

[21] *Recepty na Labužník: Domov gurmetů* [online]. Poslední revize 2011 [cit. 2011-03-26]. Recepty. Dostupné z: http://www.labuznik.com/.

[22] *Distillerie Warenghem, bretagne* [online]. 2009 [cit. 2011-03-26]. Spirituous Liquor-tradition. Dostupné z: http://www.distillerie-warenghem.com/distillerie-warenghem/warenghem_gb.htm.

[23] *To nejlepší z ovoce* [online]. 2006 [cit. 2011-03-26]. Ovocné rosoly jako jiskrné drahokamy. Dostupné z: http://www.e-knihovnicka.cz/nej/06_ovoce/rosoly.htm.

[24] *Sirupy* [online]. [cit. 2011-03-26]. Mirda22.atlasweb.cz. Dostupné z: http://mirda22.atlasweb.cz/sirupy%20vyroba.htm.

[25] *Recepty.cz* [online]. [cit. 2011-03-26]. Nápoje. Dostupné z: http://www.recepty.cz/recept/rybizovy-sirup-9171.

[26] *Nutrition Advice by Registered Dietitians: Health Castle* [online]. Last revision November 2010 [cit. 2011-03-26]. Fruit Spreads 101. Dostupné z: http://www.healthcastle.com/fruit_spreads.shtml.

[27] *Ali Express by Alibaba* [online]. [cit. 2011-03-26]. Store home. Dostupné z: http://www.aliexpress.com/fm-store/900638/210054205-374381790/Organic-Black-Currant-tea-Be-used-to-treat-sore-throats-.html.

[28] BARNEY, D. L., HUMMER, K. E.: *Currants, Gooseberries and Jostaberries: A Guide For Growers, Marketers, And Researchers In North America*. United State: Haworth Press, 2005. 269 p. ISBN 1-56022-297-2.

[29] GIUSTI, M., WROLSTAD, R. E.: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry: Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy*. United States: John Wiley and Sons Inc, 2001. 1000 p.

[30] WELCH, C. R., WU, Q., SIMON, J. E.: *Recent advances in anthocyanins analysis and characterization: Current Analytical Chemistry*. vol. 4, is. 2, 2008. 75-101 p.

[31] CASTAÑEDA-OVANDO, A.: *Food Chemistry: Chemical studies of anthocyanins*. vol. 113, is. 4, Mexico: Elsevier Ltd., 15 April 2009. 859-871 p.

[32] GALLIK, S.: *Cellbiologyolm.stevegallik* [online]. 2009 [cit. 2011-04-16]. Table of Contents. Dostupné z: http://cellbiologyolm.stevegallik.org/node/89.

[33] ŠÍMA, J.: *Jan Šíma: Jihočeská univerzita* [online]. [cit. 2011-04-18]. Dostupné z: http://users.prf.jcu.cz/sima/.

[34] SOMMER, L.: *Základy analytické chemie II*. 1. vyd. Brno: VUTIUM, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

APCI	(atmospheric pressure chemical ionization) – chemická ionizace za atmosférického tlaku
ATE	(alpha-tocopherol equivalents) – ekvivalent α-tokoferolu (1 mg vitaminu E ATE = 1,5 IU, 1 IU racemické směsi = 0,45 mg α-tokoferol)
CE	(capillary electrophoresis) – kapilární elektroforéza
CFA	(continuous flow analysis) – kontinuální průtoková analýza
CZE	(capillary zone electrophoresis) – kapilární zónová elektroforéza
ČSÚ	Český statistický úřad
ESI	(electrospray ionization) – ionizace elektrosprejem
FAB	(fast atom bombardment) – ionizace ostřelováním vzorků rychlými atomy
FIA	(flow injection analysis) – průtoková injekční analýza
FCH	fakulta chemická
HPLC	(high-performance liquid chromatography) – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPLC/MS	(high-performance liquid chromatography mass spectrometry) – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
HPLC/MS/ESI	(high-performance liquid chromatography mass spectrometry/electrospray ionization) – vysoko-účinná kapalinová chromatografie s ionizací atomů elektrosprejem a s hmotnostní detekcí
HPLC/NMR	(high-performance liquid chromatography with nuclear magnetic resonance) – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem nukleární magnetické rezonance
MALDI	(matrix-assistted laser desorption/ionization) – desorpce/ionizace laserem za přítomnosti matrice
MS	(mass spectrometry) – hmotnostní spektrometrie
NMR	(nuclear magnetic resonance) – nukleární magnetická resonance
RPC	(reversed phase chromatography) – chromatografie s opačným sledem fází
TOF	(time of flight) – průletový analyzátor
USA	(United State of America) – Spojené státy americké
UV	(ultraviolet radiation) – ultrafialové záření
VIS	(visible radiation) – viditelné záření
VUT	Vysoké učení technické

8 SEZNAM PŘÍLOH

- *Příloha č. 1: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 1 u červeného rybízu*
- *Příloha č. 2: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 4,5 u červeného rybízu*
- *Příloha č. 3: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 1 u černého rybízu*
- *Příloha č. 4: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 4,5 u černého rybízu*
- *Příloha č. 5: Průměrné hodnoty absorbancí ředěných vzorků vypočtené z naměřených absorbancí vzorků*
- *Příloha č. 6: Vypočtené hodnoty koncentrací monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve vzorcích*
- *Příloha č. 7: Vypočtené hodnoty sytosti barvy kontrolních vzorků*
- *Příloha č. 8: Vypočtené hodnoty polymerní barvy vzorků s činidlem*
- *Příloha č. 9: Průměrné hodnoty absorbancí ředěných vzorků vypočtené z naměřených absorbancí vzorků připravených ze zahřívané šťávy*
- *Příloha č. 10: Vypočtené hodnoty koncentrací monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve vzorcích připravených ze zahřívané šťávy*
- *Příloha č. 11: Vypočtené hodnoty sytosti barvy kontrolních vzorků*
- *Příloha č. 12: Vypočtené hodnoty polymerní barvy vzorků s činidlem*

9 PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 1 u červeného rybízu

λ (nm)	A	λ (nm)	A
350	0,375	510	0,812
360	0,336	515	0,821
370	0,321	520	0,820
380	0,307	525	0,796
390	0,295	530	0,754
400	0,296	540	0,616
410	0,308	550	0,425
420	0,328	560	0,268
430	0,349	570	0,154
440	0,365	580	0,091
450	0,380	600	0,041
460	0,411	620	0,028
470	0,471	640	0,022
480	0,562	660	0,021
490	0,667	680	0,017
500	0,751	700	0,014
505	0,789	720	0,011

Příloha č. 2: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 4,5 u červeného rybízu

λ (nm)	A	λ (nm)	A
350	0,333	500	0,306
360	0,282	510	0,325
370	0,258	520	0,329
380	0,231	530	0,307
390	0,205	540	0,261
400	0,19	550	0,189
410	0,188	560	0,138
420	0,192	580	0,069
430	0,194	600	0,039
440	0,195	620	0,028
450	0,196	640	0,022
460	0,201	660	0,019
470	0,217	680	0,019
480	0,247	700	0,016
490	0,281	720	0,014

Příloha č. 3: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 1 u černého rybízu

λ (nm)	A	λ (nm)	A
350	0,184	510	0,644
360	0,159	515	0,653
370	0,152	520	0,649
380	0,149	525	0,636
390	0,150	530	0,604
400	0,162	540	0,503
410	0,180	550	0,356
420	0,206	560	0,224
430	0,221	570	0,129
440	0,240	580	0,069
450	0,263	600	0,027
460	0,291	620	0,019
470	0,345	640	0,015
480	0,421	660	0,016
490	0,510	680	0,013
500	0,589	700	0,012
505	0,619	720	0,012

Příloha č. 4: Naměřené hodnoty absorbancí při měření absorpčního spektra s pH 4,5 u černého rybízu

λ (nm)	A	λ (nm)	A
350	0,238	500	0,197
360	0,209	510	0,208
370	0,185	520	0,201
380	0,165	530	0,184
390	0,150	540	0,158
400	0,138	550	0,126
410	0,131	560	0,094
420	0,130	580	0,051
430	0,131	600	0,036
440	0,126	620	0,031
450	0,123	640	0,023
460	0,129	660	0,019
470	0,146	680	0,019
480	0,159	700	0,016
490	0,179	720	0,010

Příloha č. 5: Průměrné hodnoty absorbancí ředěných vzorků vypočtené z naměřených absorbancí vzorků

Absorbance ředěných vzorků				
rybíz	doba uskladnění	teplota uskladnění		
		23 °C	8 °C	-18 °C
červený	1. týden	0,227	0,284	0,294
	2. týden	0,184	0,280	0,286
	3. týden	0,052	0,270	0,269
černý	1. týden	0,280	0,393	0,396
	2. týden	0,147	0,375	0,375
	3. týden	0,082	0,335	0,315

Příloha č. 6: Vypočtené hodnoty koncentrací monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve vzorcích

Koncentrace monomerního pigmentu (mg/l)				
rybíz	doba uskladnění	teplota uskladnění		
		23 °C	8 °C	-18 °C
červený	1. týden	75,8129	94,8497	98,1894
	2. týden	61,4519	93,3468	95,5176
	3. týden	52,1005	90,1740	89,8400
černý	1. týden	561,0825	787,5194	793,5310
	2. týden	294,5683	750,4479	751,4498
	3. týden	163,3151	671,2952	630,2159

Příloha č. 7: Vypočtené hodnoty sytosti barvy kontrolních vzorků

Sytost barvy				
rybíz	doba uskladnění	teplota uskladnění		
		23 °C	8 °C	-18 °C
červený	1. týden	9,77	10,75	10,19
	2. týden	9,81	10,28	9,39
	3. týden	10,08	9,94	8,60
černý	1. týden	23,06	29,04	16,26
	2. týden	15,29	26,52	21,48
	3. týden	14,93	19,44	22,56

Příloha č. 8: Vypočtené hodnoty polymerní barvy vzorků s činidlem

Polymerní barva				
rybíz	doba uskladnění	teplota uskladnění		
		23 °C	8 °C	-18 °C
červený	1. týden	2,42	2,48	2,23
	2. týden	2,49	2,38	2,11
	3. týden	5,46	2,36	1,96
černý	1. týden	10,92	6,24	3,30
	2. týden	10,90	5,88	4,62
	3. týden	10,77	4,44	4,92

Příloha č. 9: Průměrné hodnoty absorbancí ředěných vzorků vypočtené z naměřených absorbancí vzorků připravených ze zahřívané šťávy

Absorbance ředěných vzorků			
rybíz	doba zahřívání šťávy		
	bez zahřívání	30 s	300 s
červený	0,320	0,325	0,364
černý	0,317	0,371	0,584

Příloha č. 10: Vypočtené hodnoty koncentrací monomerního pigmentu kyanidin-3-glukosidu ve vzorcích připravených ze zahřívané šťávy

Koncentrace monomerního pigmentu (mg/l)			
rybíz	doba zahřívání šťávy		
	bez zahřívání	30 s	300 s
červený	86,6672	100,3603	121,5679
černý	635,2256	742,4324	1169,2559

Příloha č. 11: Vypočtené hodnoty sytosti barvy kontrolních vzorků

Sytost barvy			
rybíz	doba zahřívání šťávy		
	bez zahřívání	30 s	300 s
červený	9,61	11,46	12,14
černý	24,42	28,91	51,00

Příloha č. 12: Vypočtené hodnoty polymerní barvy vzorků s činidlem

Polymerní barva			
rybíz	doba zahřívání šťávy		
	bez zahřívání	30 s	300 s
červený	2,53	1,00	0,79
černý	12,06	5,15	4,92