

# Změny obsahu kyseliny askorbové v ovoci v průběhu skladování

Bc. Barbora Mrázová

---

Diplomová práce  
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

akademický rok: 2011/2012

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Barbora MRÁZOVÁ**  
Osobní číslo: **T10735**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Změny obsahu kyseliny askorbové v ovoci v průběhu skladování**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika vitamínu C, jeho zdrojů a vlastností
2. Změny obsahu vitamínu C v potravinách vlivem různých faktorů
3. Popis analytických metod využívaných pro stanovení tohoto vitamínu, se zaměřením především na chromatografickou metodu HPLC

### II. Praktická část

1. Optimalizace postupu pro stanovení kyseliny askorbové pomocí HPLC/UV
2. Stanovení obsahu kyseliny askorbové ve vybraných druzích ovoce v průběhu skladování technikou HPLC s UV detekcí
3. Vyhodnocení obsahu kyseliny askorbové v ovoci během skladování

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. VELÍŠEK, J. Chemie potravin 2. Tábor: OSSIS, 1999.
2. HLÚBIK, P., OPLTOVÁ, L. Vitaminy. Praha: Grada, 2004.
3. SNYDER, L., KIRKLAND, J., GLAJCH, J. Practical HPLC Method Development. New York: Wiley, 1997.
4. CHURÁČEK, J. Analytická separace látek. Praha: SNTL, 1990.
5. ODRIOZOLA-SERRANO, I., HERNÁNDEZ-JOVER, T., MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. Food Chemistry. 2007, 105(3), 1151-1158.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**

Ústav analýzy a chemie potravin

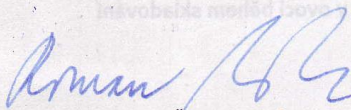
Datum zadání diplomové práce:

**1. února 2012**

Termín odevzdání diplomové práce:


**2. května 2012**

Ve Zlíně dne 10. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*





doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: ..... MRAZOVÁ BARBORA .....

Obor: ..... THEVP .....

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně ..... 2.5. 2012 .....

Mrazová B.  
.....

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě

pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

V teoretické části diplomové práce je charakterizován vitamin C, jeho vlastnosti, zdroje a ztráty v potravinách. Popsány jsou i běžně používané metody stanovení vitaminu C, se zaměřením na metodu HPLC. Experimentální část je zaměřena na stanovení kyseliny askorbové v ovoci metodou HPLC/UV v průběhu skladování u vybraných druhů ovoce (citron, pomeranč, mandarinka, kiwi, jablka Gloster, Golden Delicious a Gala, grep bílý a červený, limeta, pomelo, hruška, jahody).

Klíčová slova: kyselina askorbová, vitamin C, ovoce, skladování, HPLC/UV

## **ABSTRACT**

The theoretical part of the thesis deals with vitamin C, its properties, benefits, sources and loss in foods. There are also described common methods of vitamin C determination, oriented on HPLC method. The experimental part is focused on the determination of the ascorbic acid in fruits by HPLC/UV during storage from chosen fruits (lemon, orange, tangerine, kiwi fruit, apple Gloster, Golden Delicious and Gala, white and red grapefruit, lime, pomelo, pear, strawberry).

Keywords: ascorbic acid, vitamin C, fruit, storage, HPLC/UV

Ráda bych poděkovala své vedoucí diplomové práce Ing. Soni Škrovánkové, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady, které mi poskytla při zpracování této práce. Rovněž děkuji laborantce Ing. Lence Fojtíkové za její pomoc v laboratoři.

V neposlední řadě patří mé poděkování rodičům za umožnění studia a podporu, kterou mi poskytli při studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 VITAMINY</b> .....	<b>12</b>
1.1 VITAMIN C .....	14
1.1.1 Historie .....	15
1.1.2 Funkce vitamínu C v lidském organismu.....	15
1.1.3 Fyziologie a doporučený příjem vitamínu C .....	19
1.1.4 Zdroje vitamínu C .....	20
1.1.5 Chemické vlastnosti a reakce vitamínu C .....	22
1.1.6 Stabilita vitamínu C.....	24
1.1.7 Ztráty vitamínu C .....	25
<b>2 METODY STANOVENÍ VITAMINU C</b> .....	<b>30</b>
2.1 KAPALINOVÁ CHROMATOGRÁFIE (HPLC) .....	32
2.1.1 Instrumentace v HPLC .....	34
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>41</b>
<b>3 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE</b> .....	<b>42</b>
<b>4 MATERIÁL A PŘÍSTROJE</b> .....	<b>43</b>
4.1 VZORKY OVOCE .....	43
4.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE .....	44
4.3 POUŽITÉ POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	44
<b>5 METODIKA STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ METODOU HPLC/UV</b> .....	<b>46</b>
5.1 SKLADOVÁNÍ VZORKŮ OVOCE .....	46
5.2 OPTIMALIZACE A POSTUP IZOLACE KYSELINY ASKORBOVÉ.....	46
5.3 OPTIMALIZACE A POSTUP STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ METODOU HPLC/UV .....	47
<b>6 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>48</b>
6.1 KALIBRAČNÍ KŘIVKA STANOVENÍ STANDARDU KYSELINY ASKORBOVÉ METODOU HPLC/UV .....	48
6.2 STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V JEDNOTLIVÝCH DRUŽÍCH OVOCE.....	50
6.2.1 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v citronu .....	50
6.2.2 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v citronové šťávě.....	52
6.2.3 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v pomeranči .....	55
6.2.4 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v pomerančové šťávě .....	57
6.2.5 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v mandarince .....	60
6.2.6 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v limetě.....	62
6.2.7 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v bílém grepu.....	63
6.2.8 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v červeném grepu .....	65
6.2.9 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jablku Gloster .....	66



6.2.10	Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jablku Golden Delicious.....	68
6.2.11	Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jablku Gala .....	70
6.2.12	Stanovení obsahu kyseliny askorbové v kiwi.....	72
6.2.13	Stanovení obsahu kyseliny askorbové v pomelu.....	73
6.2.14	Stanovení obsahu kyseliny askorbové v hrušce .....	75
6.2.15	Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jahodách .....	76
<b>ZÁVĚR</b>	.....	<b>79</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b>	.....	<b>81</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b>	.....	<b>88</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b>	.....	<b>89</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b>	.....	<b>91</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH</b>	.....	<b>93</b>

## ÚVOD

Vitamin C patří mezi vitaminy rozpustné ve vodě, je nezbytný pro řadu biochemických dějů. Vitaminem C se rozumí celý reverzibilní oxidačně-redukční systém, který tvoří kyselina L-askorbová, L-askorbylradikál a kyselina L-dehydroaskorbová.

Vitamin C se v lidském těle podílí především na významných hydroxylačních reakcích probíhajících v organismu. Vitamin C má specifickou úlohu při syntéze kolagenu, dále se účastní biosyntézy mukopolysacharidů, prostaglandinů, adsorpce iontových forem železa, jeho transportu, uplatňuje se v metabolismu cholesterolu a do jisté míry napomáhá obranyschopnosti organismu. Vitamin C je považován za důležitý antioxidant působící v biologických tkáních, kde likviduje volné radikály. Nedostatek vitamínu C způsobuje onemocnění nazývané skorbut, neboli kurděje. Projevuje se krvácivostí dásní, uvolňováním zubů, špatným hojením ran a celkové tělesné únavě.

Vitamin C se vyskytuje především v potravinách rostlinného původu, nejvíce ho obsahuje čerstvá zelenina a ovoce, zejména citrusové plody. Významným zdrojem jsou také brambory, které se konzumují pravidelně a v relativně značném množství. Z potravin živočišného původu obsahují vitamin C játra a ledviny.

Kyselina askorbová je ve vodných roztocích velmi nestabilní. Mezi faktory, které negativně ovlivňují její stabilitu patří zvýšená teplota, změna pH, působení světla, přítomnost kyslíku a iontů kovů (zejména mědi). Ke ztrátám dochází zejména při skladování, kulinárním a průmyslovém zpracování potravin.

Vitamin C a jeho formy mohou být analyzovány mnoha metodami, jedná se například o titrační, spektrofotometrické, elektrochemické a enzymatické metody stanovení nebo separační metody (zejména chromatografické – kapalinová a plynová chromatografie).

Metoda HPLC je nejběžnější a nejrozšířenější fyzikálně-chemická separační metoda pro stanovení kyseliny askorbové a dehydroaskorbové. Při stanovení je využíváno různých typů kolon, detektorů a různých extrakčních technik pro přípravu vzorku.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 VITAMINY

Vitaminy jsou definovány jako organické esenciální biokatalyzátory heterotrofních organismů. Z hlediska jejich charakteristiky je důležitá především jejich exogennost, esenciálnost a katalytický účinek při řadě reakcí látkové přeměny, které vykazují buď samy, nebo ve formě složitých sloučenin, které vznikají až v organismu. [1,2]

Vitaminy nejsou pro organismus ani zdrojem energie ani stavebními jednotkami tkání, ale v organismu vykonávají několik funkcí - jsou prekurzory kofaktorů různých enzymů (vitaminy skupiny B), jiné se uplatňují v oxidačně redukčních systémech (vitamin C, vitamin E). [3]

Provitaminy, neaktivní prekurzory vitaminů, jsou organické sloučeniny bez vitaminosního účinku, které se však v živočišném těle mění působením UV záření nebo pomocí enzymů ve vitaminy, např.  $\beta$ -karoten, který je provitaminem vitaminu A. [3]

Potřeba jednotlivých vitaminů může být zásadně ovlivněna některou ze složek potravin, která zabrání plnému využití daného vitaminu nebo jej inhibují. Takovým látkám se říká antivitaminy. Jedná se tedy o látky inhibující, určitým mechanismem, funkci daného vitaminu, což může vést až k projevům deficience. [3]

Nedostatek některého vitaminu v těle se projevuje vážnými fyziologickými poruchami a onemocněním, které se v lehčích formách označuje jako hypovitaminosa, v těžších avitaminosa. Typická avitaminosa se vyskytuje v našich podmínkách poměrně vzácně. Avitaminosy nevznikají pouze jako následek nedostatečného obsahu příslušného vitaminu v potravě, ale mohou se na nich podílet i jiné faktory, například špatná resorpce vitaminů v zažívacím traktu, přítomnost antivitaminů a v některých případech i zvýšená potřeba vitaminu při fyzické nebo psychické zátěži. Naopak nadbytečné množství některého vitaminu v těle může způsobit hypervitaminosu. [1,4]

V potravinách se vitaminy vyskytují zpravidla v množství od  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  po stovky až tisíce  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  podle druhu vitaminu, druhu potravin, ročního období a způsobu zpracování. Vyskytují se volné nebo vázané na jednotlivé složky potravy, nejčastěji na sacharidy a proteiny. U potravin živočišného původu závisí obsah vitaminů na způsobu skladování a zpracování suroviny, u potravin rostlinného původu je významný především stupeň zralosti, klimatické podmínky během růstu, hnojení apod. [3]

Mezi jednotlivými vitaminy neexistují po chemické stránce žádné strukturální vztahy, podle nichž by mohly být klasifikovány. Pro jejich označení se používají velká písmena abecedy v pořadí v jakém byly objeveny, přičemž vitaminy s podobnými fyziologickými účinky jsou dále rozlišeny číselnými indexy. Základním rozlišovacím znakem vitaminů je jejich rozpustnost, podle níž se dělí vitaminy na rozpustné v tucích (lipofilní) a na rozpustné ve vodě (hydrofilní). [2,5]

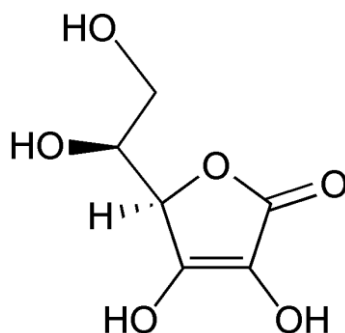
Hlavními v tucích rozpustnými vitaminy jsou vitaminy A (retinoidy), D (nejdůležitější jsou cholekalciferol a ergokalciferol), E (tokoferoly a tokotrienoly), K (nejvýznamější jsou fyllochinon a menachinon). Lipofilní vitaminy vykazují v lidském organismu různé funkce: vitamin A se uplatňuje v biochemických reakcích zrakového vjemu a má antioxidační vlastnosti, vitamin D je důležitý pro stavbu kostí a spolupodílí se na zajištění homeostázy vápníku i fosforu v organismu, vitamin E má značné antioxidační účinky, vitamin K se účastní biosyntézy bílkovin.[3,4]

Do skupiny vitaminů rozpustných ve vodě se řadí vitamin C (kyselina L-askorbová a L-dehydroaskorbová) a vitaminy označované jako B-komplex: vitamin B<sub>1</sub> (thiamin), vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin), B<sub>3</sub> (nikotinová kyselina a nikotinamid), vitamin B<sub>5</sub> (kyselina pantothenová), vitamin B<sub>6</sub> (pyridoxin), vitamin B<sub>9</sub> (folacin), vitamin B<sub>12</sub> (korinoidy), vitamin PP (biotin). [2,3]

Funkce hydrofilních vitaminů spočívá v jejich katalytickém účinku, protože se uplatňují zejména jako kofaktory různých enzymů a to v metabolismu nukleových kyselin, proteinů, sacharidů, lipidů aj. Například thiamin se účastní metabolismu sacharidů, ovlivňuje funkci svalů a nervového systému, riboflavin ovlivňuje růst a obnovu buněk, také se účastní procesu vidění, kyselina pantothenová je součástí koenzymu A, který se účastní reakcí v metabolismu aminokyselin, tuků a sacharidů, pyridoxin ovlivňuje funkci nervového a imunitního systému, biotin se v biochemických systémech uplatňuje jako koenzym značného počtu enzymů účastnících se karboxylačních reakcí. Hydrofilní vitaminy nebývají v organismu zpravidla vůbec skladovány a jejich přebytek je vylučován močí, naopak lipofilní vitaminy jsou ukládány v játrech. [3,5]

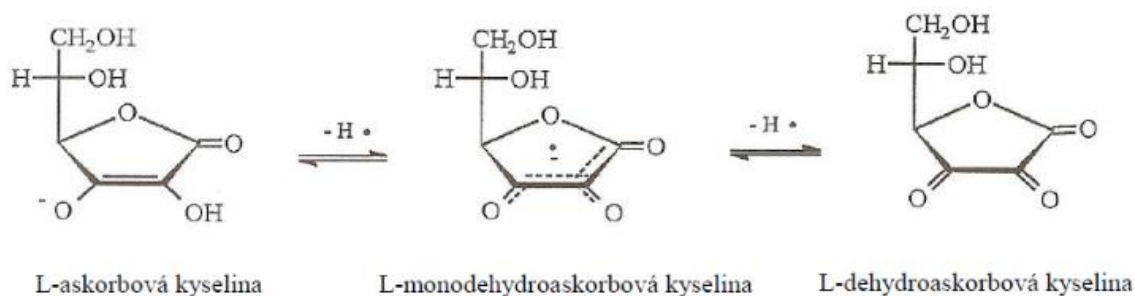
## 1.1 Vitamin C

Vitamin C patří mezi vitaminy rozpustné ve vodě, je nezbytný pro řadu biochemických dějů. Základní biologicky aktivní sloučeninou je askorbová kyselina, o  $\gamma$ -lakton hexonové kyseliny s endiolovou strukturou na druhém a třetím uhlíku. Endiolový systém ve spojení s karbonylovou skupinou podmiňují kyselý charakter kyseliny askorbové a dodávají jí silné redukční účinky. [6,7]



Obr. 1. Kyselina askorbová

Za vitamin C je považován celý reverzibilní oxidačně-redukční systém, který je charakterizován přenosem dvou elektronů a který tvoří kyselina L-askorbová ( $\gamma$ -lakton 2-oxo-L(-)-gulonové kyseliny), její monoanion askorbát, dále kyselina monodehydro-L-askorbová, která je meziproductem ve formě volného radikálu a nakonec kyselina L-dehydroaskorbová ( $\gamma$ -lakton 2,3-dioxo-L(+)-gulonové kyseliny). Oxidovaná forma kyseliny askorbové, kyselina L-dehydroaskorbová, může být díky některým reductantům redukována zpět na kyselinu L-askorbovou. Takovým redukujícím činidlem je například glutathion (GSH), který oxidací vytvoří zdvojenou molekulu s -S-S- můstkem (GSSG). Kyselina L-askorbová s kyselinou L-dehydroaskorbovou poté vytvářejí reverzibilní oxidačně-redukční systém a biologická aktivita vitaminu C zůstává zachována. [1,6,8]



Obr. 2. Oxidačně-redukční systém vitaminu C [9]

### 1.1.1 Historie

Chemicky byl vitamin C poprvé izolován z endokrinní žlázy nadledvinek v roce 1928 maďarským biochemikem Albertem Szent-Györgyim, tehdy pod názvem kyselina hexuronová. Poté se svým spolupracovníkem Haworthem změnil název na kyselinu askorbovou. Struktura kyseliny askorbové byla objasněna v roce 1933 a v témže roce byla připravena synteticky. O čtyři roky později Charles Glen King z Pittsburské univerzity dokázal, že se jedná o stejnou chemickou látku, která je obsažena v ovoci a zabraňuje kurdějím. [3,5]

Příznaky nedostatku tohoto vitamínu u člověka jsou známy už od starověku, ale intenzivnější výzkum začal až po 1. světové válce. Kurděje postihovaly často námořníky na dlouhých cestách, při kterých chyběla ve stravě čerstvá zelenina a ovoce. Mnohé dobovatelské výpravy pokládaly skorbut za nepřekonatelného nepřítele. Napoleonovy neúspěchy v Egyptě byly vysvětlovány skorbutem. Skorbut byl největší pohromou mořeplavců 15. a 16. století. Námořníci výprav Vasca de Gamy a Krištofa Kolumba byli také těžce postiženi skorbutem. [5,10]

Jen ojediněle jsou zaznamenány některé úspěchy prevence nebo léčby. Na radu Indiánů uměl Jacques Cartier již v roce 1536 vyléčit ze skorbutu své námořníky odvarem z borového jehličí. Také anglické námořnictvo při cestách do kolonií trpělo skorbutem, ale už od roku 1601 dostávali námořníci pomeranče a citrony. V Evropě se začala doporučovat zelenina a ovoce až v 18. století, do té doby v Evropě probíhaly hladomory a pandemie skorbutu. Situace se zlepšila až se do Evropy v 18. století rozšířily brambory. [5]

### 1.1.2 Funkce vitamínu C v lidském organismu

Vitamin C je vitamínem pouze pro člověka a několik dalších živočichů (primáti, morčata a netopýři živící se ovocem). Lidé, kvůli mutaci v genetickém kódu L-gulonolaktónoxidázy, enzymu nezbytného pro biosyntézu vitamínu C, ztratili schopnost tento vitamin ve svém organismu syntetizovat. Proto musí přijímat vitamin C v potravě. Vitamin C se podílí především na významných hydroxylačních reakcích probíhajících v organismu. Vstřebává se v tenkém střevě a nachází se v řadě tělních tekutin. [9,11,12]

Kyselina askorbová je účinným redukujícím činidlem v mnoha intra- i extracelulárních reakcích. Je kofaktorem řady enzymů zapojených do různých metabolických procesů. Jed-

nou z hlavních biologických funkcí tohoto oxidačně-redukčního systému je podíl přenosu vodíku a elektronů z výchozích substrátů až na molekulární kyslík. To platí zejména pro rostlinný materiál. Tento redukční systém bývá často podporován bioflavonoidovým oxidačně-redukčním systémem. [3,13]

Vitamin C má specifickou úlohu při biosyntéze kolagenu, kdy působí jako kofaktor hydroxylace při konverzi prolinu na hydroxyprolin. Vitamin C je esenciálním kofaktorem pro enzym propyl-4-hydroxylázu a lysyl-hydroxylázu, které jsou potřebné pro stabilizaci molekuly kolagenu a k upevnění příčné vazby v molekule kolagenu. Hydroxylace prolinu a lysinu souvisí s biosyntézou bílkovin pojivových tkání. Prolin je totiž hlavní složkou kolagenu, tvořícího pojivo v kůži, šlachách, chrupavkách, kostech, srdeční chlopni, cévních tkáních, rohovce a oční čočce. Kolagen představuje asi jednu třetinu z celkového množství bílkovin v těle. [5,14]

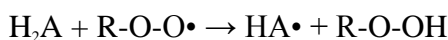
Vitamin C se také účastní vzniku adrenalinu z tyrosinu, uplatňuje se při metabolismu nadledvinových steroidů. Vitamin C se dále účastní biosyntézy lipidů, proteinů, mukopolysacharidů, prostaglandinů, katecholaminů a karnitinu, adsorbce iontových forem železa, jeho transportu na feritin, stimuluje transport sodných, chloridových iontů a zřejmě i vápenatých iontů. [9,15,16]

Vitamin C je důležitým antioxidantem, který chrání tělesné tkáně a ostatní vitaminy. Antioxidační aktivita vitaminu C je důležitou složkou ochrany organismu před nežádoucími účinky, zejména onkogenními a aterogenními. Vitamin C je efektivním antioxidantem ve všech vodnatých částech buňky, v tělesných tekutinách jako je krev, lymfa nebo mezibuněčná tekutina. Na této aktivitě se v organismu spolu s vitaminem C podílí  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, koenzym Q<sub>10</sub>, enzymy kataláza a superoxid dismutáza, kyselina lipoová a stopové prvky selen a zinek. [17,18]

Askorbová kyselina i její isomery a deriváty mohou reagovat s volnými radikály, které způsobují oxidaci lipidů a dalších oxylabilních složek potravin. Brzdí tak řetězovou autooxidační reakci a účinně působí jako antioxidanty. Po reakci s volnými radikály je vitamin C zpět redukován donory elektronů, jako jsou glutathion, flavonoidy, tokoferoly a NADPH. Reakci askorbové kyseliny (H<sub>2</sub>A) s peroxylovým radikálem mastné kyseliny (R-O-O•),



případně s alkoxylovým radikálem (RO•), lze schematicky znázornit následující rovnicí (HA• je askorbylradikál a R-O-OH je hydroperoxid mastné kyseliny):



Vzniklý askorbylradikál již není schopen vyvolat další řetězovou reakci a disproportionuje na askorbovou a dehydroaskorbovou kyselinu. [19,20]

Extracelulární funkce vitamínu C spočívá především v regeneraci tokoferolu (vitamínu E) z tokoferoxylového radikálu a v regeneraci glutathionu z jeho oxidované formy. V kombinaci s tokoferoly je kyselina askorbová účinnějším antioxidantem. Tokoferoly totiž přednostně reagují s volnými radikály lipidů. Vznikající radikály tokoferolů jsou na fázovém rozhraní tuk-voda redukovány askorbovou kyselinou zpět na tokoferoly. Kyselina askorbová reaguje podobně také s toxickými formami kyslíku, kterými jsou hydroxylový radikál, anion superoxidového radikálu a singletový kyslík. [9]

Vitamin C vykazuje antioxidační aktivitu i proti vytvořeným volným radikálům v extracelulární tekutině obklopující plíce, čočku, rohovku a sítnici oka. [21,22]

Vitamin C působí příznivě na snižování sérové hladiny celkového cholesterolu a zvyšuje koncentraci HDL cholesterolu u začínající hypercholesterolemie. Z hlediska kardiovaskulárních chorob je důležitá funkce kyseliny askorbové při přeměně cholesterolu na žlučové kyseliny v játrech. [23,24]

Vědecké a experimentální výzkumy dokazují, že chronický nedostatek vitamínu C vede k hypercholesterolemii a hromadění cholesterolu v některých tkáních. Nedostatek vitamínu C je nepřímo spojen se sníženou absorpcí cholesterolu, tento účinek vyplývá ze snížení dostupnosti žlučových kyselin, monoglyceridů a mastných kyselin. Kyselina askorbová se podílí na regulaci metabolismu cholesterolu několika způsoby. Pokud je vitamin C doplněn do stravy lidí a zvířat, kteří trpí hypercholesterolemií, tak se významně snižuje koncentrace cholesterolu v plazmě. [25]

Chronický nedostatek vitamínu C může také zapříčinit patogenezi aterosklerózy, dále má vliv na koncentraci triglyceridů v plazmě, a také na integritu cévních stěn. [25]

Četné studie byly zaměřeny také na vztah mezi příjmem kyseliny askorbové a rizika vzniku kardiovaskulárního onemocnění (ischemické choroby srdeční). Studie zaměřené na ženy a muže ve věku 30 – 69 let. Výsledky studie podporují hypotézu, že zvýšený příjem kyseli-

ny askorbové je spojen se snížením rizika úmrtí na ischemickou chorobu srdeční, ale pouze u žen. [15]

Vitamin C do jisté míry napomáhá obranyschopnosti organismu. Askorbát totiž zvyšuje aktivitu fagocytů a chrání jejich membrány před oxidačním poškozením, dále zvyšuje hladinu protilátek a interferonu. Vitamin C stimuluje imunitní systém v průběhu virových a bakteriálních infekcí. Preventivní přísun vitamínu C může mírně zkrátit dobu trvání nemoci u zdravých lidí, ale nemá vliv na závažnost nemoci. Na druhé straně hladinu vitamínu C snižují faktory ovlivňující negativně imunitu, jako jsou steroidy, některé antikoncepční přípravky, kouření cigaret a stres. [1,26]

Vitamin C je také účinným prostředkem v prevenci a léčbě senné rýmy, ekzémů a kopřivky. Vitamin C napomáhá k léčbě krvácejících dásní a hraje klíčovou roli při hojení ran, zejména u diabetiků. [3,7]

Vitamin C je významným v boji proti rakovině. Epidemiologické studie dokazují, že strava se zvýšeným obsahem vitamínu C může oddálit nástup rakoviny. Bylo prokázáno, že pravidelná konzumace vyšších dávek ovoce a zeleniny snižuje riziko vzniku rakoviny, zejména u epitelárních druhů rakoviny zažívacích cest a dýchacího ústrojí. Ovoce a zelenina totiž obsahují vysoké množství potenciálních činitelů, kteří působí proti karcinogenům. Mezi tyto činitele patří karotenoidy, vitaminy C a E, selen, vláknina, ditiolioly, glukosinoláty, isokyanáty, flavonoidy, fenoly, inhibitory proteáz, rostlinné steroly a limoneny. [27]

Askorbát má protirakovinné účinky zejména při výskytu rakoviny žaludku. Kyselina askorbová brání tvorbě potenciálně karcinogenních N-nitrososloučenin z dusičnanů a dusitanů v žaludeční šťávě, a tím poskytuje ochranu před rakovinou žaludku. Dále vykazuje pozitivní účinky proti rakovině dutiny ústní, jícnu, tlustého střeva a plic. [28,29]

Také deriváty kyseliny askorbové, askorbyl stearát a askorbyl palmitát, inhibují proliferaci nádorových buněk. Díky své lipofilní povaze inhibují průnik rakovinových buněk do mozku. Askorbyl stearát navíc působí proti rakovině slinivky břišní a vaječnicků. [30]

O jednoznačně pozitivním vlivu vitamínu C na zhoubné nádory se však vedou spory, protože se obvykle pacientům současně podává chemoterapie, která ovlivňuje imunitní systém, a proto je obtížné odhalit účinek samotného vitamínu C. [1]

### 1.1.3 Fyziologie a doporučený příjem vitamínu C

Denní dávka 10 mg askorbové kyseliny bývá postačující k prevenci skorbutu. Dnes se doporučovaný denní příjem vitamínu C pohybuje v rozmezí 65 až 120 mg na osobu a den. Pro věkovou kategorii 19 – 59 let při lehké pracovní zátěži je to 75 mg, při střední pracovní zátěži 80 mg. U těhotných žen se toto doporučení zvyšuje na 100 mg a u kojících žen na 120 mg. U pacientů s respiračními chorobami, při rekonvalescenci a v dalších případech se podávají denní dávky v množství 1000 mg. Požadavek vitamínu C se zvyšuje při extrémní tělesné zátěži, trvalém psychickém stresu, kouření a alkoholismu. [9,31]

Protože se vitamin C z organismu vylučuje během dvou až tří hodin v závislosti na druhu potravin a náplni žaludku, je nutné jej dodávat pro udržení jeho hladiny alespoň dvakrát denně. Maximálního účinku vitamínu C je nejlépe dosaženo při působení v kombinaci s bioflavonoidy. [23]

Stav hypovitaminosy vitamínu C je velmi obtížné rozpoznat a nelze jej přesně charakterizovat, projevuje se totiž řadou nespecifických příznaků, nejčastěji tzv. jarní únavou. [9]

Avitaminosa se projevuje onemocněním kurděje nebo též skorbut, za 45-80 dní úplného chybění vitamínu C potravě, při němž se neobnovuje vazivová tkáň a vzniká krvácení způsobené fragilitou cév. Charakteristickými příznaky jsou otoky, krvácení dásní, uvolňování zubů, snadná lomivost kostí, vnitřní krvácení střev a chrupavek, bledost, zesláblost a špatné hojení ran. To vše souvisí se selháním tvorby biosyntézy kolagenu. [32,33]

Hypervitaminosa vitaminem C není doposud přesně známa. Nadměrný příjem vitamínu C bývá spojen se střevními potížemi a přináší riziko vzniku ledvinových kamenů. Dalšími příznaky jsou zvýšené močení a kožní vyrážka. Vysoké dávky tohoto vitamínu také zvyšují vstřebávání rtuti a zatěžují játra. [5]

Za antivitaminy vitamínu C je považována řada oxidoreduktas uplatňujících se v metabolismu živočichů a rostlin. Náleží sem například askorbát oxidasa, askorbát peroxidasa, monodehydroaskorbát reduktasa, dehydroaskorbát reduktasa, superoxiddismutasa, a askorbát cytochrom-*b*-reduktasa. Nepřímo způsobují ztráty askorbové kyseliny další oxidoreduktasy, jako jsou enzymy triviálně nazývané polyfenolasy. [9]

Mezi faktory, které výrazně snižují hladinu vitamínu C v lidském organismu, patří také stres, sluneční záření, znečištěné ovzduší, kouření, alkohol, virové infekce, aspirin, hormonální antikoncepce a určitá antibiotika. [15,34]

Vitamin C se vstřebává v proximální části tenkého střeva. Děje se tak aktivním elektroneutralním transportním mechanismem, který je závislý na přenosu sodíku. Se stoupajícím příjmem kyseliny askorbové vstřebávané množství klesá, například při stupňovaném příjmu velkých dávek od 1,2 – 2 g klesá resorpce z 50 % na 16 %. Při denním příjmu 90 až 180 mg se u nekuřáků resorpce pohybuje kolem 80 – 90 %, u kuřáků je menší. Potravou přijatá kyselina askorbová se po resorpci v tenkém střevě rozděljuje do příslušných orgánů a metabolizuje se. Nejvíce kyseliny askorbové v organismu je v nadledvinách a hypofýze, poměrně značná koncentrace je v játrech, slezině a mozku. Část, která se nemetabolizovala se spolu s metabolity vylučuje močí. Produkty metabolismu, které se vylučují močí jsou: dehydroaskorbát, 2,3-diketogulonová kyselina a askorbát-2-sulfát. [35,36]

#### 1.1.4 Zdroje vitamínu C

Vitamin C se vyskytuje v potravinách rostlinného původu, v plazmě a některých živočišných tkáních. Přirozeně se vyskytuje téměř výhradně v redukované formě jako L-askorbová kyselina. Množství kyseliny dehydroaskorbové v potravinách bývá téměř vždy nižší a je závislé na rychlosti oxidace askorbátu a hydrolýzy dehydroaskorbové kyseliny na 2,3 diketogulonovou kyselinu. [37]

Nejbohatšími rostlinnými zdroji jsou čerstvé ovoce a zelenina (tab. 1, 2, 3), především černý rybíz, paprika, jahody, rajčata, brokolice, citrusové ovoce, brambory a zelí. Mezi jednotlivými druhy však existují velké rozdíly v obsahu vitamínu. Ten je výrazně závislý na vegetačních podmínkách během růstu, stupni zralosti, způsobu posklizňového zpracování a mnoha dalších faktorech. Ze živočišných zdrojů to jsou zejména játra a ledviny, v těchto zdrojích je ovšem koncentrace nízká. [9]

Zdroje s vysokým obsahem vitamínu C však zpravidla nebývají příliš významné pro pokrytí potřeby vitamínu (např. šípky, černý rybíz, kadeřavá petržel), neboť se konzumují jen příležitostně v malém množství. Mnohem větší význam mají zdroje s průměrným obsahem vitamínu, především brambory, které se konzumují pravidelně a v relativně velkém množství. [9]

Tab. 1. Obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce dle

Výzkumného ústavu potravinářského Bratislava [38]

<b>Druh ovoce</b>	<b>Obsah vit. C [mg.100 g<sup>-1</sup>] jedlého podílu</b>	<b>Druh ovoce</b>	<b>Obsah vit. C [mg.100 g<sup>-1</sup>] jedlého podílu</b>
Rybíz černý	176	Maliny	24
Jahody	71	Borůvky	16
Kiwi	67	Meruňky	11
Pomeranče	51	Třešně	10
Citrony	49	Jablka	9
Grepy	43	Višně	6
Rybíz červený	35	Švestky	5
Mandarinky	32	Hrušky	4
Angrešt	30	Hrozny	4

Tab. 2. Obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce dle

Veliška [9]

<b>Druh ovoce</b>	<b>Obsah vit. C [mg.100 g<sup>-1</sup>] jedlého podílu</b>	<b>Druh ovoce</b>	<b>Obsah vit. C [mg.100 g<sup>-1</sup>] jedlého podílu</b>
Rybíz černý	110 - 300	Borůvky	90
Jahody	40 - 70	Broskve	7 - 10
Kiwi	70 - 127	Třešně	6 - 30
Pomeranče	30 - 60	Jablka	1,5 - 5
Citrony	30 - 64	Višně	6 - 30
Grepy	24 - 70	Švestky	2,5 - 4,5
Rybíz červený	20 - 50	Hrušky	2 - 4
Angrešt	33 - 48	Hrozny	2 - 5

Tab. 3. Obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce dle zahraničních zdrojů [39,40,41]

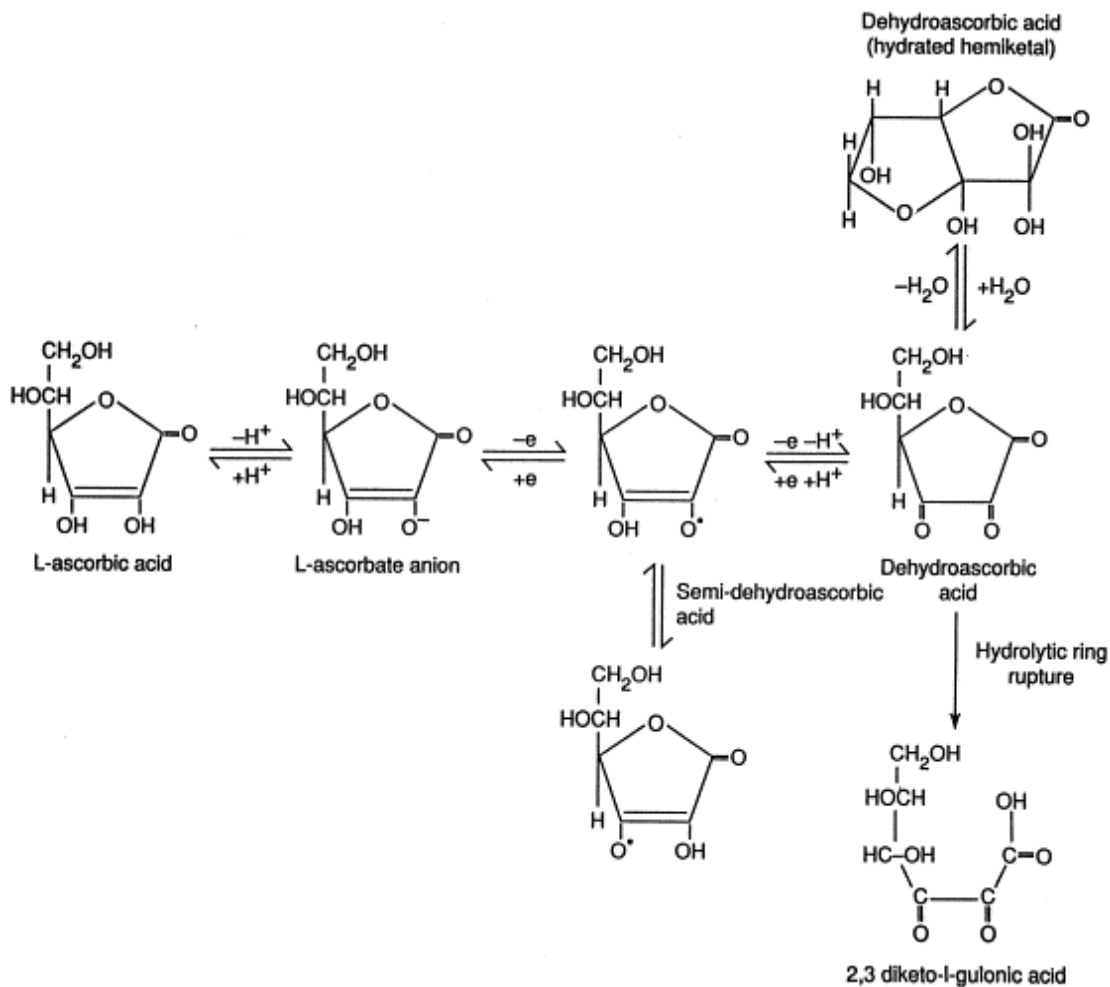
Druh ovoce	Obsah vit. C [mg.100 g <sup>-1</sup> ] jedlého podílu	Druh ovoce	Obsah vit. C [mg.100 g <sup>-1</sup> ] jedlého podílu
Rybíz černý	155 - 215	Borůvky	2 - 16
Jahody	57 - 89	Broskve	4 - 11
Kiwi	75 - 98	Třešně	7 - 10
Pomeranče	42 - 71	Jablka	2 - 6
Citrony	46 - 77	Mandarinky	16 - 52
Grepy	28 - 52	Švestky	4 - 10
Limety	27 - 49	Hrušky	3 - 4
Pomelo	31 - 61	Hrozny	4 - 11

Z tab. 1, 2, 3 je zřejmé, že obsah vitamínu C v jednotlivých druzích ovoce je velmi proměnlivý. Vlivů, jenž podmiňují variabilitu obsahu vitamínu C, je celá řada (odrůda, geografické podmínky, výživa, genotyp, vývojové stádium plodu, manipulace při sklizni, skladování a některé další). [7]

### 1.1.5 Chemické vlastnosti a reakce vitamínu C

Vitamin C je velmi dobře rozpustný ve vodě. V neutrálním, kyselém a alkalickém prostředí za katalytických účinků těžkých kovů (Cu, Fe), tepla, světla, vzdušného kyslíku a různých chemických činidel podléhá kyselina askorbová snadno oxidaci za vzniku kyseliny L-dehydroaskorbové. Tuto oxidaci katalyzují různé enzymy jako jsou peroxidasa, askorbaso nebo cytochromoxidasa. Přenos elektronů je reverzibilní, dokud není porušena kruhová struktura kyseliny L-dehydroaskorbové. Pokud dojde k jejímu hydrolytickému rozštěpení, vzniká kyselina 2,3-diketogulonová. [3,37]

Z obr. 3 je patrné, že přenos je nevratný, pokud dojde k hydrolytickému rozštěpení kyseliny dehydroaskorbové a vznikne kyselina 2,3-diketogulonová kyselina. Jedná se o dimer, ve kterém jsou obě oxoskupiny hydratovány za vzniku dioxanového kruhu a aktivita vitamínu C zaniká. [7,37]



Obr. 3. Schéma postupné oxidace L-askorbové kyseliny [36]

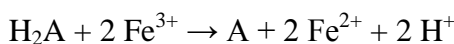
Obě enolové hydroxylové skupiny kyseliny askorbové mohou disociovat, a proto ji lze považovat za dvojsytnou kyselinu ( $pK_1 = 4,25$  a  $pK_2 = 11,8$ ). V roztocích o fyziologických hodnotách pH se převážně vyskytuje jako anion. Např. v roztocích o pH 7,4 je přítomno 99,93 % askorbové kyseliny, zbytek tvoří nedisociovaná kyselina (0,06 %) a dianion (0,01 %). Jsou známy pouze soli monovalentního anionu, např. askorbát sodný. [9]

Askorbyl radikál je kyselina ( $pK = -0,96$ ), která v roztocích existuje jako anion stabilizovaný rezonancí (jako bicyklická sloučenina, zřejmě s dvojnou vazbou mezi uhlíky C-2 a C-3), nepárový elektron je lokalizován v oblasti C-4. [20]

Dehydroaskorbová kyselina je ve vodných roztocích přítomna jako hydratovaný bicyklický monomer. [20]

- ***Redukce iontů kovů kyselinou askorbovou***

Askorbová kyselina reaguje s ionty kovů za vzniku komplexů, ale za určitých podmínek (především při nízkých hodnotách pH prostředí a je-li přítomna v nízkých koncentracích) může ionty kovů také redukovat. Reakce s ionty  $\text{Fe}^{3+}$  a analogicky i s ionty  $\text{Cu}^{2+}$  probíhá následující rovnicí, kde  $\text{H}_2\text{A}$  je askorbová kyselina a A je dehydroaskorbová kyselina :



Redukční působení askorbové kyseliny v konečném efektu urychluje oxidační reakce související s nežádoucími změnami chuti, vůně a barvy potravin. Tyto změny jsou důsledkem následné reakce  $\text{Fe}^{2+}$  se vzdušným kyslíkem. [9,20]

- ***Degradace kyseliny askorbové katalyzovaná kyselinami***

V silně kyselém prostředí se askorbová kyselina dekarboxyluje a dehydratuje. Kyselá katalyzovaná degradace askorbové kyseliny se považuje za hlavní příčinu ztrát vitamínu C v konzervářských výrobcích v nepřítomnosti vzdušného kyslíku. Dochází k ní i v kyselých potravinách jako jsou ovocné kompoty a džusy (pH kolem hodnoty 3,5), zvláště při skladování za vyšších teplot nebo při termických operacích jako je sušení. Při teplotě 50 °C ztrácejí ovocné džusy 70–95 % askorbové kyseliny během 12 týdnů skladování. [9]

- ***Reakce kyseliny askorbové s dalšími složkami potravin***

Ke ztrátám vitamínu může docházet také reakcí askorbové kyseliny s některými reaktivními složkami potravy. Technologicky významné jsou zejména reakce s chinony vznikajícími reakcemi enzymového hnědnutí. K reakcím neenzymového hnědnutí dochází především u potravin, které mají nízký obsah kyseliny askorbové. [9,20]

### **1.1.6 Stabilita vitamínu C**

Kyselina askorbová je ve vodných roztocích velmi nestabilní. Existuje řada faktorů, které negativně ovlivňují její stabilitu. Kyselina askorbová se rozkládá za zvýšené teploty, zvýšeného pH, působením světla, přítomnosti kyslíku a iontů kovů (zejména mědi). Je tedy nezbytné omezit působení těchto vlivů na minimum. [42]

**Vliv světla** – kyselina askorbová i dehydroaskorbová jsou náchylné k degradaci světlem. Degradaci těchto kyselin ovlivňuje účinek přírodního světla i účinek UV záření (265 nm).



Účinek přírodního světla na stabilitu kyseliny askorbové byl zkoumán ve dvou druzích laboratorních baněk – v bílé transparentní a v hnědé baňce. Po hodině působení přirozeného záření počáteční koncentrace kyseliny askorbové klesne v bílé transparentní baňce na 84,2 % a v hnědé baňce na 95,6 %. Vlivem UV záření je pokles koncentrace kyseliny askorbové až na 79,7 %. [42]

**Vliv teploty** – teplota je jedním z hlavních faktorů, které ovlivňují stabilitu kyseliny askorbové v roztocích. Po hodině působení teplot 60 °C a 80 °C bylo zjištěno, že počáteční koncentrace kyseliny askorbové klesá o více než 20 %, za laboratorní teploty po jedné hodině byla koncentrace kyseliny askorbové nezměněna. Je tedy nutné pracovat s kyselinou askorbovou za laboratorních teplot. [42]

**Vliv pH** – kyselina askorbová vykazuje vyšší stabilitu v kyselém roztoku, maximální stabilitu má v rozmezí pH 4 - 6. Obecně platí, že pH kolem 2,1 je nejvhodnější pro přípravu vzorků. Při tomto pH je zajištěna dostatečná stabilita a využití aktivních forem kyseliny askorbové. Nejvíce používaným extrakčním činidlem je kyselina metafosforečná, lze ji také použít v kombinaci s EDTA, organickými kyselinami, metanolem, acetonitrilem nebo tetrahydrofuranem. [15,42,43]

**Vliv koncentrace** – mnohé studie dokazují, že čím vyšší je koncentrace kyseliny askorbové a dehydroaskorbové, tím mají lepší stabilitu v roztoku. [42]

**Vliv stabilizátorů** – ke zlepšení stability kyseliny askorbové a dehydroaskorbové se v roztoku velmi často používají stabilizátory. Nejpoužívanějším stabilizátorem je kyselina metafosforečná. Mezi další stabilizátory se řadí EDTA, kyselina trichloroctová, kyseliny o-fosforečná a oxalová, homocystein nebo pyrogallol v kombinaci s kyselinou citronovou. [42]

### 1.1.7 Ztráty vitamínu C

Kyselina askorbová je jedním z nejméně stálých vitaminů. Ke ztrátám dochází při skladování, při povaření, dlouhodobém zahřívání a při dalších kulinárních úpravách, protože kyselina askorbová přechází na kyselinu dehydroaskorbovou, která poměrně snadno otevírá laktonový kruh, což má za následek ztrátu biologické aktivity. Vitamin C v potravinách je také citlivý na zmrazování, sušení, solení a působení kyslíku. Rozklad vitamínu C urychlují i enzymy a stopy kovů z náradí a nádobí. [1,7]

Ke ztrátám při skladování, kulinárním a průmyslovém zpracování dochází nejčastěji třemi způsoby: oxidací, vyluhováním vodou a zahříváním. Nejvýznamnější jsou ztráty výluhem a ztráty oxidací. [9]

Ztráty askorbové kyseliny oxidací vzdušným kyslíkem (autooxidací) probíhají v přítomnosti i v nepřítomnosti iontů přechodných kovů. Aktivní jsou hlavně ionty trojmocného železa a dvojmocné mědi. Reakce závisí na hodnotě pH prostředí. V kyselém prostředí je pomalá, rychlejší je v neutrálním a nejrychlejší v alkalickém prostředí. Rozsah ztrát oxidací lze snížit omezením kontaktu potravin se vzduchem a snížením množství přítomného kyslíku (odvzdušnění za sníženého tlaku, výměnou vzduchu za inertní atmosféru, kvašením, atd.). Celkové ztráty se pohybují zpravidla mezi 20 až 80 %. [9,20]

Ztráty askorbové kyseliny výluhem jsou obvyklé při mytí, blanširování (předváření), vaření a konzervování ovoce a zeleniny v případech, kdy se příslušný výluh dále nezpracovává. K vyluhování dochází v důsledku působení vody na potraviny. Ztráty jsou minimální, pokud je potravina připravována v co nejmenším množství vody. Vyluhování je tedy tím větší, čím větší množství vody je použito k přípravě dané potraviny a čím je větší styčný povrch potravin s vodou. Povaha a rozsah ztrát závisí také na pH, teplotě, rozsahu kontaminace těžkými kovy a přívodu kyslíku. Ztráty výluhem jsou vyšší u listové zeleniny s velkým povrchem než u kořenové zeleniny. U listové zeleniny jsou ztráty vitamínu C v rozmezí 20-70 %, zatímco u kořenové zeleniny je rozmezí ztrát 25-50 %. [9,44]

Aby došlo k co nejmenším ztrátám, ovoce a zelenina by měly být podávány, pokud možno v syrovém, nepoškozeném stavu, co nejdříve po sklizni. Delší skladování ovoce a zeleniny by mělo být ve vzduchotěsné nádobě a v chladu. Připravené šťávy by se neměly uchovávat v lednici déle než dva až tři dny. [30]

Hlavním zdrojem vitamínu C jsou u nás při současné struktuře spotřebovaného ovoce citrusové plody, z ovoce mírného pásma jablka. Předností ovoce je, že je konzumováno především v syrovém stavu a jen velmi malá část je tepelně upravována. Vzhledem k sezónnosti je část úrody konzervována ve formě kompotů, džemů, mrazených ovocných dření nebo nápojů. [44]

Ke značným ztrátám vitamínu C v ovoci dochází při nesprávném skladování. I po utržení zůstávají plody živým organismem a i ve sklizeném ovoci probíhají nadále metabolické procesy. Dochází k disimilaci, během které se rozkládají různé organické látky vytvořené

v průběhu vegetační doby. To se projevuje dýcháním, čím větší je intenzita dýchání, tím větší jsou ztráty hmotnosti i vitamínu C. Skladovatelnost ovoce a výše ztrát vitamínu C závisí na druhu, odrůdě, jakosti skladovaného ovoce, stupni zralosti, mechanické odolnosti (pevnost pletiv, obsah kutikulárních vosků), manipulaci při sklizni, dopravě a především na skladovacích podmínkách (teplota, vlhkost vzduchu, stálost prostředí, tma), z nichž zejména teplota skladu a obsah kyslíku v atmosféře skladu hrají rozhodující roli (dýchání se zpomaluje s klesající teplotou i s klesajícím obsahem kyslíku v atmosféře skladu). Vhodným větráním ve skladovacích prostorách lze zamezit rozvoji plísní, hnilob a dalších mikroorganismů napadajících ovoce. Nevhodné je rovněž společné skladování ovoce a zeleniny (např. jablka způsobují rychlejší klíčivost brambor). [44]

Pro skladování ovoce pěstovaného v našich zeměpisných šířkách je doporučována teplota vzduchu 0 – 4 °C a 90 – 95 % relativní vlhkost vzduchu. V tab. 4 jsou uvedeny doporučené teploty pro skladování vybraných druhů ovoce. [45]

Tab. 4. Doporučené teploty pro skladování ovoce [45]

0 – 4 °C	4 - 8 °C	> 10 °C
jablka, hrušky, švestky meruňky, broskve třešně, višně jahody, hrozny rybíz, angrešt maliny, ostružiny, borůvky pomeranče, mandarinky kiwi	granátové jablko melouny cukrové karambola	avokádo ananas banány grepy citrony, limetky melouny vodní mango, papája

V enzymově aktivních a hlavně v mechanicky poškozených rostlinných pletivech, například loupáním nebo krájením, je oxidace katalyzována především enzymem askorbátoxidáso. V některých rostlinných pletivech souvisí ztráty vitamínu s aktivitou peroxidas anebo jiných enzymů. Askorbátoxidasa působí na askorbovou kyselinu v přítomnosti vzdušného kyslíku. Ztráty vitamínu enzymovou oxidací v ovoci a zelenině při zpracování lze omezit blanšírováním, které inaktivuje enzymy oxidující askorbovou kyselinu. [9,20]

Ke ztrátám vitamínu C dochází i v konzervovaném ovoci, např. u kompotů dochází k největším ztrátám během jejich skladování. Výše těchto ztrát je závislá na době a teplotě skladování a pohybuje se v rozmezí 10 – 50 %. K obdobnému poklesu obsahu vitamínu C dochází i u džusů a ovocných nápojů. [9,44]

U ovoce konzervovaného oxidem siřičitým jsou ztráty askorbové kyseliny během technologického zpracování nižší, neboť přítomný oxid siřičitý redukuje peroxid vodíku vznikající oxidací askorbové kyseliny v přítomnosti těžkých kovů. [9]

Nejstabilnější je vitamin C při zmrazování a mrazírenském skladování ovoce a zeleniny. Při teplotách -18 °C dochází jen k minimálním ztrátám, naopak ke značným ztrátám může docházet při rozmrazování (30-50 %). U zmrazených jahod dojde během 11 měsíců ke ztrátě ve výši 25 % při skladovací teplotě -30 °C. [9]

Velmi často se používá šťáva z citronů do čaje. Ztráty vzniklé při různé úpravě nápojů sledoval Hejda a jím zjištěné výsledky jsou uvedeny v tab. 5. [44]

*Tab. 5. Ztráty vitamínu C v % při přípravě nápojů v závislosti na době jejich spotřebování [44]*

Druh nápoje	% ztrát				
	Doba uchování nápoje v minutách				
	1	5	10	15	60
Horký čaj s citronovou šťávou	3,34	22,19	36,17	46,21	54,41
Horký čaj s citronovou šťávou a cukrem	18,24	30,09	44,38	55,32	62,92
Horká voda s citronovou šťávou	44,38	59,88	65,35	73,86	83,59
Studená voda s citronovou šťávou	32,83	43,47	59,88	69,31	81,76
Studená převařená voda s citronovou šťávou	10,03	20,67	40,43	42,86	60,18
Studený čaj s citronovou šťávou	2,13	15,51	29,48	38,6	46,04

Nízké ztráty vitamínu C ve studeném a horkém čaji s citronovou šťávou lze vysvětlit příznivými stabilizačními účinky tříslovin čaje. Na stabilitě vitamínu C se podílí kromě tříslovin i kyselina citronová. Rozdíl mezi ztrátou vitamínu C v čaji a ve vodě lze vysvětlit právě přítomností, respektive nepřítomností, tříslovin. Rozdíl mezi vodou převařenou a vodou z vodovodní sítě spočívá hlavně v rozdílném obsahu rozpuštěného trojmocného železa

a kyslíku. Z výsledků uvedených v tabulce vyplývá, že obavy z destrukce vitamínu C v horkém čaji (80 °C) jsou neopodstatněné a přidávání citronové šťávy do čaje je vhodné. Citronová šťáva by se měla přidávat do čaje těsně před konzumací. Méně vhodné je ale vkládání plátků citronu do čaje, neboť nedochází k dokonalému výluhu vitamínu C. [44]

## 2 METODY STANOVENÍ VITAMINU C

Metod na stanovení obsahu vitamínu C a jeho forem je mnoho. Hledají se i nové možnosti, modifikují se známé a ověřují původní metody. Problematika je složitá, protože neexistují specifické reakce, které by nebyly ovlivňovány interferujícími a průvodními látkami. [46]

Metody stanovení vitamínu C (kyseliny askorbové) lze rozdělit do několika skupin: titrační, spektrofotometrické (UV-VIS spektrofotometrie, fluorimetrie a chemiluminiscenční metody), elektrochemické (polarografie, coulometrie, voltametrie, amperometrie), enzymatické a separační metody (zejména chromatografické – kapalinová a plynová chromatografie), které mají výhodu hlavně ve vysoké citlivosti stanovení. [47]

Před vlastním stanovením kyseliny askorbové ve vzorku musí být provedena její extrakce. Protože je kyselina askorbová dost nestabilní, podmínky extrakce jsou velmi důležité při všech typech stanovení. Kyselina askorbová se rozkládá za zvýšené teploty, přítomnosti kyslíku a rozklad katalyzují i přítomné kovy. Kyselina askorbová se při extrakci stabilizuje zajištěním nízkého pH, přítomností komplexotvorných látek a redukujících látek. Jako extrakční činidlo se používá např. kyselina šťavelová, která v extraktu udržuje nízké pH a má i slabé komplexotvorné vlastnosti. K omezení vlivu přítomných těžkých kovů se používá chelátové činidlo EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová) nebo se kyselina askorbová extrahuje do organických rozpouštědel. Z dalších extračních roztoků a stabilizátorů je možné použít zředěnou kyselinu chloristou, kyselinu fosforečnou za přítomnosti EDTA a siřičitan sodný. Přítomnost vzdušného kyslíku je možné eliminovat probubláváním extraktu dusíkem a krátkým extrakčním časem. [48,49]

The Association of Official Analytical Chemistry (AOAC) doporučuje ke stanovení kyseliny askorbové použití oxidoredukční titrace 2,6-dichlorfenolindofenolem (Tillmansova metoda) v různých úpravách. Nejpoužívanějším oxidačním činidlem je redox barvivo 2,6-dichlorfenolindofenol. V podstatě se využívá oxidace kyseliny askorbové na kyselinu dehydroaskorbovou, přičemž modře zbarvený 2,6-dichlorfenolindofenol přechází na bezbarvou leukobázi. Oxidimetrickou titrací kyseliny askorbové lze sledovat vizuálně, fotomet-

ricky, potenciometricky i polarograficky. Titrační metoda je velmi rychlá a vhodná především ke sledování úbytku kyseliny askorbové během technologického procesu. Podle některých autorů je Tillmansova metoda za určitých podmínek nespecifická. [50,51]

Nejznámější spektrofotometrické a kolorimetrické stanovení využívá kondenzaci kyseliny dehydroaskorbové s 2,4-dinitrofenylhydrazinem za vzniku nerozpustného kondenzačního produktu (oranžovočerveného osazonu), který se po odfiltrování rozpustí v chloroformu a měří se absorbance při 250 nm. Kyselina askorbová se stanoví po šetrné oxidaci na kyselinu dehydroaskorbovou. Reakci narušují látky s karbonylovými skupinami, hlavně cukry. [46,52]

Kineticko-spektrofotometrické stanovení askorbové kyseliny je založeno na inhibičním vlivu askorbové kyseliny na reakci mezi bromičnanem a kyselinou chlorovodíkovou. Produkty této reakce odbarvují methylovanž, což může být sledováno spektrofotometricky při vlnové délce 510 nm. Askorbová kyselina přednostně reaguje s produkty reakce (brom, chlor). [53]

Polarografická metoda využívá ke stanovení kyseliny askorbové elektrochemickou oxidaci na rtuťové kapkové elektrodě a redukci vysoce fluoreskujícího chinoxalinového derivátu, který vzniká kondenzací kyseliny dehydroaskorbové a o-fenyldiaminu. Tuto metodu lze použít ke stanovení askorbové kyseliny ve všech potravinářských materiálech. Polarografické stanovení kyseliny askorbové je velmi citlivé a přesné. [46,54]

Voltametrická analýza používá různé druhy elektrod, pro stanovení vitamínu C jsou používány uhlíkové elektrody. Pournaghi-Azar použil tuto metodu k elektrokatalytické oxidaci kyseliny askorbové v čerstvých ovocných šťávách pomocí bicyklopentadienyl  $\text{Fe}^{\text{III}}$  karboxylové kyseliny jako prostředníka. Tímto způsobem lze analyzovat kyselinu askorbovou v silně viskózních, barevných a zakalených roztocích. Ve 100 ml čerstvých ovocných šťáv bylo použitím voltametrické analýzy stanoveno 15 – 45 mg kyseliny askorbové. [50]

K amperometrickému stanovení vitamínu C použili Strohl a Curran síťovou skleněnou uhlíkovou elektrodu jako amperometrický průtokový detektor. Amperometrická flow

injection analýza využívá imobilizované reaktory enzymu monoaminoxidázy nebo fotochemickou redukci methylenovou modří. Použitím fotochemické redukce methylenovou modří lze dosáhnout stanovení vitamínu C v rozsahu 5-90  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . [55]

Fluorimetrická analýza je jednoduchá, citlivá a rychlá metoda pro stanovení kyseliny askorbové v ovoci i zelenině. Jednou ze standardních fluorimetrických metod je metoda založená na kondenzační reakci kyseliny askorbové s o-fenylendiaminem za vzniku fluorescenčního produktu. Intenzita fluorescence se měří při vlnových délkách 360 a 430 nm. K fluorimetrickému stanovení se také využívá oxidace kyseliny askorbové aktivním uhlím nebo zředěným roztokem jodu. U každého fluorimetrického stanovení je nutné sledovat hodnotu pH, neboť intenzita fluorescence většiny látek je závislá na pH roztoku. [50,56,57]

K enzymatickému stanovení kyseliny askorbové se používá enzym peroxidáza z křenu (HRP). Toto stanovení je založeno na akci kyseliny askorbové jako druhého substrátu s peroxidázami v reakcích o-dianisidinu a 3,3',5,5'-tetramethylbenzidinu (TMB) oxidaci s peroxidem vodíku. Rozsah reakce je měřen spektrofotometricky. Postup s použitím peroxidázy z křenu byl použit pro stanovení kyseliny askorbové v ovocných šťávách, mléku, zakysaných mléčných výrobcích a v kojenecké výživě. Uvádí se, že enzymatická metoda stanovení je specifická, citlivá, jednoduchá a rychlá. [58]

Jednou z nejrozšířenějších fyzikálně-chemických separačních metod je chromatografie, umožňující účinnou separaci látek nutnou pro spolehlivou identifikaci a kvantifikaci složek sledovaného vzorku. Nejběžnější metodou pro stanovení kyseliny askorbové a dehydroaskorbové je metoda HPLC. Při stanovení je využíváno různých typů kolon, detektorů a různých extrakčních technik pro přípravu vzorku. K dalším chromatografickým metodám stanovení vitamínu C patří i plynová chromatografie. [47]

## 2.1 Kapalinová chromatografie (HPLC)

Objev kapalinové chromatografie je připisován M. S. Cvetovi, který v roce 1903 v uspořádání kapalina-sorbent první rozdělil na sloupci sorbentu listová barviva. V klasickém pro-



vedení (kolony délky až 0,5 m, vnitřní průměr kolem 10 mm, průměr částic stacionární fáze 0,05 až 1 mm) se používala do poloviny šedesátých let. Tento proces dělení byl velmi pomalý, protože průtok mobilní fáze byl zajištěn pouze gravitační silou a nebyly dostupné dostatečně účinné sorbenty. I přesto se klasická kapalinová chromatografie stále používá pro separace jednoduchých směsí, např. k oddělení rušících složek před spektrofotometrickým stanovením. Pro separaci komplikovaných směsí látek je tato metoda prakticky nepoužitelná. K těmto účelům v současné době slouží vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High-performance liquid chromatography, HPLC). [59,60]

Na počátku 70. let minulého století došlo k prudkému rozvoji HPLC technologie. Vysoké účinnosti a rychlosti se dosahuje použitím kolon plněných náplněmi s velmi jemnými částicemi o velikosti 3 až 15  $\mu\text{m}$  a poměrně velkých průtoků mobilní fáze, což však vyžaduje použití vysokotlakých čerpadel a takové konstrukce celého přístroje, která odolává tlakům do 30 až 60 MPa. Průtok mobilní fáze je zajištěn vysokým tlakem (jednotky až desítky MPa), a proto také bývá tato metoda někdy označována jako vysokotlaká kapalinová chromatografie. Dávkuje se malá množství vzorku (řádově  $\mu\text{l}$ ). K detekci je nutné použití citlivých detektorů, které umožňují kontinuální monitorování látek na výstupu z kolony. Signál detektoru se zpracovává počítačem. [59,61]

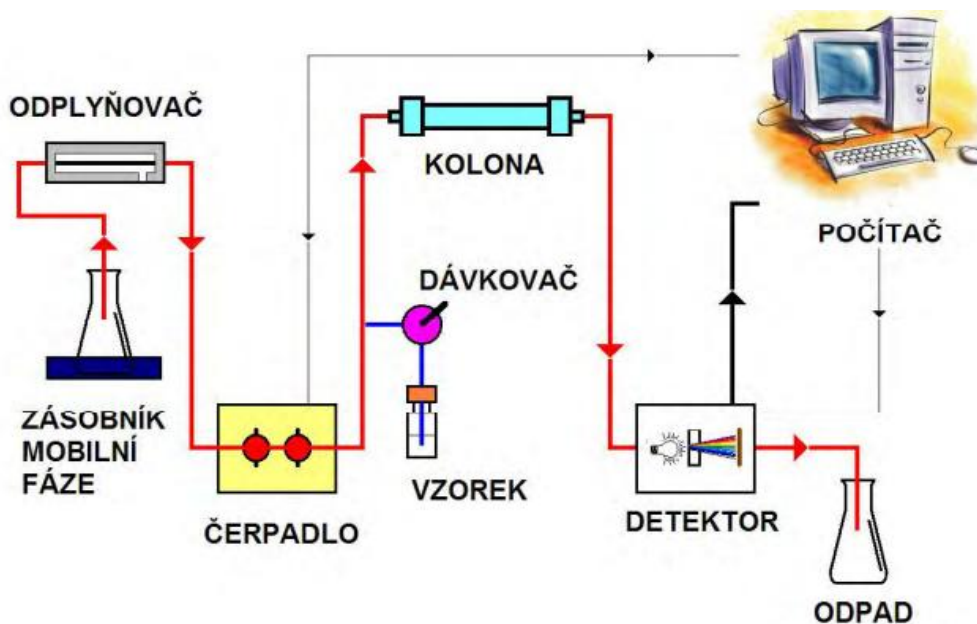
Vysokoúčinná kapalinová chromatografie existuje jako tzv. „normální“ a „reverzní“ fáze. U normálních fází jsou funkční skupiny stacionární fáze polární, mobilní fází bývá nepolární rozpouštědlo (pentan, hexan). Chromatografie na tzv. systémech s obrácenými fázemi (RP, reversed-phase, asi v 80 % všech aplikací HPLC) používá chemicky vázanou nepolární stacionární fázi. [62]

Mezi výhody HPLC patří široký rozsah použitelnosti. Umožňuje analyzovat ionty, látky polární i nepolární, málo těkavé, tepelně nestabilní i vysokomolekulární (asi 80 % veškerých známých látek lze analyzovat touto metodou). Další předností HPLC je možnost ovlivnění separace nejen volbou stacionární fáze, ale i změnami složení mobilní fáze, protože kapalná mobilní fáze není pouze interním nosičem vzorků, ale podílí se přímo na interakcích rozpuštěných látek se stacionární fází. Nevýhodou ve srovnání s plynovou chromatografií je náročnější instrumentace a složitější mechanismus separace. [59,63]

V HPLC je nejdůležitější přesnost analýzy, která závisí na kvalitě kontrol instrumentálních a separačních podmínek. Přesnost a správnost metody je založena na kalibraci systému standardy o známém složení. [63]

### 2.1.1 Instrumentace v HPLC

Kapalinový chromatograf (obr. 4) se skládá z částí, které zabezpečují transport mobilní fáze, dávkování vzorku, separaci látek a jejich detekci. Mobilní fáze je přiváděna ze zásobníku do vysokotlakého čerpadla, které ji přes dávkovací zařízení vzorku dopravuje do kolony. V koloně dochází k oddělování jednotlivých složek. Na výstupu z kolony je připojen detektor, jehož signál je zaznamenáván a zpracováván ve vyhodnocovacím zařízení (počítači). [63,64]



Obr. 4. Schéma kapalinového chromatografu [65]

#### **Odplyňovač**

Mobilní fáze se odplyňuje především proto, aby po uvolnění tlaku na výstupu chromatografické kolony nebo i v koloně nedocházelo k uvolnění bublinek rozpuštěných plynů. Uvádí se, že 70 % problémů, které se vyskytují v chromatografickém systému, souvisí s mobilní fází, odplynění mobilní fáze je tedy jeden z nejdůležitějších způsobů eliminace. K odplynění mobilní fáze je využíván ultrazvuk, probublávání heliem, vakuové odplynění a ohřev. Tyto metody mohou být použity samostatně nebo v kombinaci. [66]

### *Vysokotlaká čerpadla (pumpy)*

Moderní instrumentace umožňuje pracovat s tlaky až 60 MPa. Hlavním požadavkem na funkci čerpadla je, aby dávkování bylo plynulé, bez pulsů, které by mohly způsobit výkyvy v detektoru. Čerpadla musí také zaručit konstantní průtok, který se pohybuje většinou v rozmezí 0,5 - 1,2 ml.min<sup>-1</sup>. Zároveň je třeba, aby konstrukční materiál byl chemicky odolný proti korozivním účinkům i při použití poměrně agresivních mobilních fází (jako jsou silně kyselé a bazické roztoky, organická rozpouštědla). Materiálem pro výrobu čerpadel je nejčastěji nerezová ocel, safír, titan a keramika. [61,67]

V kapalinové chromatografii se využívá dvou principů čerpání mobilních fází:

- izokratický, kdy je za stálého průtoku čerpána jedna mobilní fáze (jednosložková nebo vícesložková, která je předem smíchaná)
- gradientový, kdy v průběhu jedné analýzy lze měnit složení i průtok mobilní fáze. [67]

### *Dávkovací zařízení*

Účinnost chromatografického procesu je do jisté míry závislá i na dávkování vzorku. V současnosti se používají manuální smyčkové dávkovače na principu přepínacích ventilů nebo automatické dávkovače různé konstrukce. [66]

Dávkovací vysokotlaké ventily umožňují dávkovat i při tlaku 60 až 80 MPa a to jednak pouze konstantní objem vnitřního prostoru ventilu nebo při zařazení dávkovací smyčky objem smyčky. Typickým manuálním dávkovačem je šesticestný ventil se smyčkou. Komerčně dostupné dávkovače mají různé objemy dávkovacích smyček od 0,2 µl do 2 000 µl. Dávkovací ventily mohou být elektricky nebo pneumaticky ovládané. [66,68]

Automatické dávkovače (autosamplery) jsou spojené se zásobníkem vzorku, ve kterém jsou umístěny mikronádobky (vialky) uzavřené pryžovým septem nebo perforovanou zátkou z polypropylenu. Autosamplery umožňují vstřikování série vzorků v průběhu časové periody. [66]

### *Kolona*

Vhodně zvolená kolona má ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii rozhodující význam, protože výsledek chromatografické analýzy je dán především kvalitou kolony

a její náplní. Účinnost kolon závisí nejen na kvalitě použitého sorbentu, ale i na délce, tvaru a vnitřním povrchu kolony. [61]

Pro analytické aplikace se převážně používají kolony plněné pórovitými náplněmi o velikosti částic 3 - 10  $\mu\text{m}$  o délce 5 - 30 cm a vnitřním průměrem 3 - 5 mm. Účinnost separace, doba analýzy a pracovní tlak se zvyšují s rostoucí délkou kolony a naopak klesají s rostoucím průměrem částic náplně. Při práci s kolonami o průměru menším než 2 mm se jedná o tzv. mikrokolonovou kapalinovou chromatografii, jejíž výhodou je hlavně snížení spotřeby mobilní fáze i vzorku a zvýšení citlivosti detekce. [62]

Kolony pro HPLC jsou z materiálu, který musí odolávat relativně vysokým pracovním tlakům a zároveň chemickému působení mobilních fází a separovaných složek. Materiálem chromatografických kolon je většinou antikorozivní ocel nebo speciálně tvrzené borosilikátové sklo, lze použít i kombinaci obou materiálů. Materiály pro plnění kolon mohou být založeny na organické nebo anorganické matici (silikagel, oxid hlinitý, oxid zirkoničitý, oxid titaničitý, pórovité sklo), na níž mohou být chemicky vázány nebo zakotveny různé stacionární fáze. Charakter stacionární fáze závisí na chromatografickém systému. [60,62]

Nejpoužívanější typ kolon je  $C_{18}$ , kde jsou molekuly octadecylsilanu vázány na částicích silikagelu. [62]

### ***Detektory***

Úkolem detektorů je zaznamenat rozdíl mezi průchodem čisté mobilní fáze a mobilní fáze obsahující eluovanou složku. K detekci separovaných látek se zpravidla využívá jejich vlastností, kterými se tyto látky liší od mobilní fáze. [61]

Obecné požadavky na detektory v HPLC:

- odezva detektoru musí být okamžitá a lineární v co nejširším rozmezí koncentrací
- vysoká citlivost a nízká úroveň šumu
- malá citlivost ke změnám průtoku, tlaku a teploty
- minimální mimokolonový příspěvek k rozšiřování elučních zón
- možnost použít gradientovou eluci. [69]

K detekci se využívá analytická vlastnost systému, která je ve známém a reprodukovatelném vztahu ke koncentraci analytu. Podle toho se rozlišují detektory buď univerzální (měří vlastnost systému jako celku, tj. index lomu, tepelnou vodivost, relativní permitivitu) nebo selektivní (měří absorbanci při určité vlnové délce, elektrolytický proud při určitém potenciálu). Selektivní detekce je obvykle citlivější a vhodnější při analýze komplikovaných matric.[69]

Mezi běžně používané detektory v HPLC patří fotometrické, fluorimetrické, elektrochemické, hmotnostní a refraktometrické.

Nejčastěji používané jsou fotometrické detektory (UV/VIS), neboť jsou poměrně jednoduché, provozně spolehlivé, lze jimi detekovat velký počet látek a jsou kompatibilní s gradientovou elucí. Základním požadavkem je nízká absorbance mobilní fáze při použité vlnové délce detekce. Fotometrické detektory jsou založeny na principu absorpce záření v oblasti vlnových délek od 190 do 800 nm, v ultrafialové a viditelné části spektra. Detektory pracují buď s fixní vlnovou délkou (nejčastěji 254 nm), s možností výběru několika vlnových délek (DAD – detektor diodového pole), nebo jsou opatřeny monochromátorem a pracují na principu spektrofotometru v rozsahu 190 - 400 nm. Světlo zdroje prochází průtokovou celou, intenzita prošlého paprsku je měřena fotonásobičem a kontinuálně se snímá signál eluovaných složek. [59,62]

Detektor diodového pole (DAD) umožňuje získat spektrální data látek v průběhu celé analýzy. Průtokovou celou prochází polychromatické světlo, transmittované záření je spektrálně rozkládáno holografickou mřížkou, takže na každou z miniaturních fotodiod umístěných na destičce o délce cca 1 cm dopadá zářivý tok o určité vlnové délce zeslabený absorpcí v průtokové cele detektoru. Použití DAD je podmíněno softwarovým zázemím, které umožňuje např. průběžné hodnocení tzv. „čistoty píků“, identifikaci neznámých složek pomocí spektrální knihovny, rychlé stanovení adsorpčního maxima látky, kvantifikaci píků s odlišnými spektrálními vlastnostmi v jedné analýze apod. [62]

Planchon a kol. použili metodu HPLC s UV-VIS detekcí pro stanovení kyseliny askorbové v 10 druzích jablek. Kyselina askorbová byla extrahována v 0,01 M kyselině metafosforečné. Mobilní fází byl 0,01 M octan amonný o pH 3,5, průtok mobilní fáze byl 0,7 ml/min.

K analýze byla použita kolona Nucleosil 100 C18. Detekce byla prováděna při 248 nm. Výsledky stanovení ukázaly, že obsah kyseliny askorbové v jablkách je velmi proměnlivý a závisí např. na zralosti, barvě jablka, na pozici jablka na stromě, aj. Obsah kyseliny askorbové byl stanoven v rozmezí 2,9 - 20 mg.100 g<sup>-1</sup>. [70]

Pro stanovení kyseliny askorbové v nealkoholických nápojích použili Rodríguez-Bernaldo de Quirós a kol. jednoduchou a rychlou metodu HPLC s UV-VIS detekcí. Navržená metoda je založena na použití nové stacionární fázi Teknokroma, TR-010065 Mediterrana sea18. Mobilní fází byl 0,1 % roztok kyseliny mravenčí ve vodě, průtok mobilní fáze byl 0,8 ml/min, UV detekce byla provedena při vlnové délce 245 nm. Při této metodě byly analyzované vzorky nealkoholických nápojů vstříkovány přímo bez předchozí úpravy. Metoda má vysokou citlivost s limitem detekce 0,01 mg.l<sup>-1</sup>. Celková doba analýzy nepřesáhla 6 minut. Rozsah koncentrací kyseliny askorbové, ve kterém bylo měřeno byl 6,6 – 840 mg.l<sup>-1</sup>. V pomerančových nápojích byl stanoven obsah kyseliny askorbové v rozmezí 6,6 mg.l<sup>-1</sup> – 739 mg.l<sup>-1</sup>. [71]

Španělská vědci provedli stanovení vitamínu C v rajčatech, jahodách a jablkách pomocí metody HPLC s UV detekcí. Extrakce vzorků byla provedena pomocí 4,5 % kyseliny metafosforečné. K analýze byla použita kolona C18 s redukčním činidlem 1,4-dithiotreitol. Složení mobilní fáze bylo: 10 mM fosfátového pufru, dihydrogenfosforečnan draselný (pH 3,5) a acetonitril. Detekce probíhala při vlnové délce 245 nm. Bylo zjištěno, že obsah vitamínu C klesá v následujícím pořadí: jahody (63,4 mg.100 g<sup>-1</sup>), rajčata (28,6 mg.100 g<sup>-1</sup>), a jablka (5,1 mg.100 g<sup>-1</sup>). [72]

Fontannaz a kol. stanovovali celkový vitamin C (kyselinu askorbovou i kyselinu dehydroaskorbovou) v pomerančovém džusu a kompotech pomocí HPLC s UV detekcí. Mobilní fáze byla připravena z acetonitrilu, decylaminu a octanu sodného (0,25 M) o pH 5,4. K analýze byla použita kolona LiChrospher RP-18. UV detekce byla provedena při 265 nm. Po provedení analýzy bylo zjištěno, že větší obsah vitamínu C má pomerančový džus (1,7 mg.100 g<sup>-1</sup>) než jablečný a meruňkový kompot (0,5 mg.100 g<sup>-1</sup>). [73]

Hernández a kol. stanovovali metodou HPLC/UV obsah vitamínu C v tropickém ovoci (banán, papája, mango, ananas a pomeranč). Extrakční směs byla složena z 3 % kyseliny metafosforečné, 8 % kyseliny octové a 0,1 % kyseliny šťavelové. Mobilní fází byla směs 0,2 % kyseliny fosforečné a destilované vody. K analýze byla použita kolona Shodex

RSpak KC-811. Stanovení bylo provedeno při vlnové délce 245 nm. Metodou HPLC/UV bylo zjištěno, že obsah vitamínu C je v následujícím pořadí: pomeranč, papája, mango, banán a ananas. [74]

Gundogdu a kol. použili metodu HPLC s fluorimetrickou detekcí ke stanovení kyseliny askorbové v bílých, červených a černých moruších. Extrakce proběhla s 6 % kyselinou metafosforečnou. K analýze byla použita kolona Luna C18. Mobilní fáze byl 25 mM dihydrogenfosforečnan draselný, jehož pH bylo upraveno na pH 2,2. Kyselina askorbová byla detekována při vlnové délce 254 nm. Analýzou bylo zjištěno, že nejvíce kyseliny askorbové obsahují bílé moruše ( $24,422 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), dále červené moruše ( $16,166 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) a nejmenší množství kyseliny askorbové bylo naměřeno v černých moruších ( $11,302 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ). [75]

Burini použil pro stanovení celkového vitamínu C v různých potravinách metodu HPLC s fluorimetrickou detekcí. Vzorky potravin (grepový a pomerančový džus, kiwi, jablka, rajčata, salát, hrášek, pasterované a UHT mléko) byly extrahovány v kyselině metafosforečné. Nejprve bylo nutné provést oxidaci kyseliny askorbové na dehydroaskorbovou pomocí peroxylových radikálů. Následně kyselina dehydroaskorbová kondenzovala s benzenem-1,2-diaminem a vznikly fluorescenční chinoxalinové deriváty, které byly odděleny na koloně C18. Složení mobilní fáze bylo 80 mM fosfátového pufru a methanolu při pH 7,8. Fluorimetrická detekce byla provedena při dvou vlnových délkách - 355 nm a 425 nm. Nejvyšší obsah vitamínu C byl zjištěn u kiwi ( $86,8 - 89,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), nejméně vitamínu C obsahovalo UHT mléko ( $1,11 - 1,19 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ). [54]

Iwase a Ono stanovovali kyselinu askorbovou v džusech metodou HPLC s elektrochemickou detekcí. Jako vhodná mobilní fáze byla zvolena kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA) a fosforečnan draselný (pH = 3). K analýze byla použita kolona Inertsil ODS-3 v reverzní fázi. Signál byl snímán elektrochemickým detektorem (ECD) s potenciálem 400 mV. Tato metoda stanovení byla jednoduchá a rychlá, trvala asi 8 minut. Bylo zjištěno, že nejvyšší obsah kyseliny askorbové je přítomen v pomerančovém a jablečném džusu. [76,77]

Gayosso-García Sancho a kol. provedli stanovení vitamínu C v papáji ve čtyřech fázích zralosti pomocí metody HPLC/MS. Byla provedena extrakce ve směsi 0,1 M kyseliny citronové a 0,05 % EDTA. Mobilní fáze byla složena z 5 mM cetrimidu, 50 mM dihydrogenfosforečnanudraselného a methanolu. K chromatografické analýze byla použita kolona C30

o rozměrech 4,6 x 150 mm se sorbentem 3  $\mu\text{m}$ . Kyselina askorbová byla detekována při vlnové délce 254 nm a kyselina dehydroaskorbová při 261 nm. Z výsledků analýzy vyplývá, že s větším stupněm zralosti se obsah vitamínu C zvyšuje. Největší množství vitamínu C bylo naměřeno ve 4. stupni zralosti ( $58,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) a nejméně bylo naměřeno v prvním stupni zralosti ( $25,1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ). [78]

Vitamin C může být také stanoven pomocí plynové chromatografie. Tato metoda je založena na stanovení kyseliny dehydroaskorbové po redukci sirovodíkem. Redukce probíhá po převedení kyseliny askorbové na trimethylsilylderivát. [50]

Silva použil plynovou chromatografii ke stanovení obsahu celkového vitamínu C v pomerančové šťávě. Vzorke byly derivatizovány s trimethylsilylem. Ke stanovení byla použita kolona Chrompack CP-Sil-5. Limit detekce byl stanoven na  $4 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ , odezva detekčního systému byla lineární i při koncentraci  $200 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ . Plynová chromatografie je velmi přesnou metodou, je ale nutné zamezení oxidace kyseliny askorbové vzduchem, při oxidaci vzduchem totiž dochází k velkým ztrátám kyseliny askorbové a ke zkreslení výsledků. [79]



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu kyseliny askorbové (vitaminu C) ve vybraném ovoci v průběhu skladování pomocí chromatografické metody HPLC/UV.

1. Formou literární rešerše popsat vitamin C, charakterizovat jeho vlastnosti, přínos a působení v organismu, zdroje a ztráty v potravinách. Dále popsat analytické metody běžně používané pro stanovení tohoto vitaminu, se zaměřením na chromatografickou metodu HPLC/UV.
2. Pro stanovení kyseliny askorbové provést optimalizaci izolačního a analytického postupu pomocí metody HPLC/UV a stanovit obsah kyseliny askorbové u vybraných druhů ovoce – ve šťávě z citronu, pomeranče, mandarinky, kiwi, jablka Gloster, Golden Delicious a Gala, grepu bílého a červeného, limety, pomela, hrušky, jahod. Následně zjistit ztráty kyseliny askorbové v průběhu skladování.

## 4 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

### 4.1 Vzorky ovoce

V diplomové práci bylo analyzováno 13 druhů ovoce. Vzorky ovoce byly zakoupeny v obchodní síti Kaufland, Billa a Hypernova.

- Citrony - zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Španělsko  
(doba skladování: 28 dnů)
- Citrony na šťávu- zakoupeny v Bille Zlín, země původu: Španělsko
- Pomeranče – zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Španělsko  
(doba skladování: 37 dnů)
- Pomeranče na šťávu- zakoupeny v Bille Zlín, země původu: Španělsko
- Mandarinky - zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Španělsko  
(doba skladování: 19 dnů)
- Kiwi - zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Itálie  
(doba skladování: 15 dnů)
- Grepy bílé - zakoupeny v Hypernově Hodonín, země původu: Španělsko  
(doba skladování: 28 dnů)
- Grepy červené - zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Španělsko  
(doba skladování: 28 dnů)
- Jablka Gloster - zakoupena v Kauflandu Hodonín, země původu: Polsko  
(doba skladování: 24 dnů)
- Jablka Golden Delicious - zakoupena v Bille Zlín, země původu: ČR  
(doba skladování: 24 dnů)
- Jablka Gala – zakoupena v Bille Zlín, země původu: SR  
(doba skladování: 24 dnů)

- Limety - zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Mexiko  
(doba skladování: 24 dnů)
- Pomela - zakoupena v Hypernově Hodonín, země původu: Čína  
(doba skladování: 24 dnů)
- Hrušky – zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Holandsko  
(doba skladování: 24 dnů)
- Jahody - zakoupeny v Kauflandu Hodonín, země původu: Maroko  
(doba skladování: 10 dnů)

## 4.2 Použité chemikálie

- Methanol pro HPLC (Sigma – Aldrich, Francie)
- Kyselina fosforečná (85%, P. Lukeš, Uherský Brod)
- Standard kyseliny askorbové (Fluka – Chemika, Švýcarsko)
- Redestilovaná voda

## 4.3 Použité pomůcky a přístroje

- Analytické váhy (AFA 210 LC, ČR)
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky
- Mikrofiltry 0,45  $\mu\text{m}$  (LUT Syringe Filters Nylon, UK)
- Filtrační papír (FILTRAK No.390,  $\varnothing$  15 cm)
- Lednice (Liebherr, Německo)
- Hliníková fólie

### Speciální laboratorní vybavení

- Aparatura pro HPLC/UV/VIS (DIONEX – Ultimate 3000, USA)
  - binární pumpy SD pump
  - termostat kolon TCC-3000 SD
  - dávkovací ventil Autosampler WPS-3000 SL
  - kolona SUPELCOSIL – LC8 (15 cm x 4,6 mm; 5  $\mu\text{m}$ , Supelco, USA)

- detektor DAD – 3000 (RS)
- PC s vyhodnocovacím programem HyStar Post Processing (USA)

## 5 METODIKA STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ METODOU HPLC/UV

Pro přesné stanovení obsahu kyseliny askorbové ve vzorcích ovoce je nutné optimalizovat postup izolace kyseliny askorbové a také stanovit vhodné podmínky pro její měření pomocí metody HPLC/UV.

### 5.1 Skladování vzorků ovoce

2 vzorky od každého druhu ovoce (13 druhů) byly po celou dobu stanovení skladovány v chladnu (lednice) při teplotě 4 – 10 °C, bez přístupu světla. Šťávy v objemu 50 ml ze dvou druhů ovoce v uzavřené a otevřené skleněné nádobě byly skladovány bez přístupu světla v lednici při teplotě 4 – 10 °C.

### 5.2 Optimalizace a postup izolace kyseliny askorbové

Pro optimalizaci izolace kyseliny askorbové se zjišťovalo vhodné složení a množství extrakčních činidel. Při zjišťování optimálního postupu jsme vycházeli z předchozích diplomových prací. Vzorky jsme extrahovali v redestilované vodě, v methanolu a v mobilní fázi ( $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} : \text{H}_3\text{PO}_4$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5) po dobu 5 minut, následně u nich byla provedena analýza. Na základě výsledků stanovení jsme zjistili, že pro analýzu je nejvhodnější extrakce se směsí mobilní fáze ( $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} : \text{H}_3\text{PO}_4$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5) po dobu 5 minut. Při použití redestilované vody a čistého methanolu jako rozpouštědla docházelo ke štěpení píků a nebylo možné vyhodnotit získané výsledky.

Vzhledem k tomu, že k měření bylo použito více druhů ovoce o různém obsahu kyseliny askorbové, bylo stanovení provedeno v koncentrované a různě naředěné šťávě. Analýzou bylo zjištěno, že vhodnější je použití koncentrovaných šťáv u všech vzorků ovoce.

Ze zkoumaného ovoce (od každého druhu 2 kusy) byla pro každou analýzu získána šťáva v množství asi 1 ml, ze které bylo na analytických vahách (4 desetinná místa) odváženo 0,5 g vzorku. V citronu a pomeranči (od každého 2 kusy) bylo navíc provedeno stanovení kyseliny askorbové v průběhu skladování v ovocné šťávě v množství 50 ml, ze které bylo pro každou analýzu na analytických vahách odváženo 0,5 g vzorku. Takto předem získané šťá-

vy byly po celou dobu stanovení uskladněny v lednici jak v otevřené nádobě, tak i v uzavřené nádobě. Jednotlivé vzorky byly doplněny do 25 ml mobilní fáze ( $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} : \text{H}_3\text{PO}_4$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5) a po důkladném promíchání byla provedena extrakce. Aby se zabránilo možným ztrátám kyseliny askorbové, probíhala extrakce za nepřítomnosti denního světla - sklo obalené hliníkovou fólií a uchovávané v temnu po dobu extrakce 5 minut. Získaný extrakt byl poté přefiltrován přes papírový filtr a následně přes mikrofiltr o velikosti pórů 0,45  $\mu\text{m}$ . Tímto postupem byly připraveny všechny vzorky, které byly použity k analýze HPLC.

### **5.3 Optimalizace a postup stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC/UV**

Pro optimalizaci stanovení kyseliny askorbové ze vzorků ovoce byly prozkoušeny různé podmínky stanovení. Jako nejvhodnější mobilní fáze byla vybrána směs ( $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} : \text{H}_3\text{PO}_4$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5). Separace probíhala na koloně SUPELCOSIL - LC8 (15 cm x 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ). Do HPLC byl dávkován alikvotní podíl 20  $\mu\text{l}$ . Eluce byla provedena izokraticky při teplotě kolony 30 °C a průtoku mobilní fáze 0,8  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Detekce kyseliny askorbové byla prováděna pomocí UV detektoru při vlnové délce 254 nm. Analýza každého vzorku trvala 10 minut, kyselina askorbová byla detekována v 2,13 – 2,42 min. K vyhodnocení výsledků byl použit chromatografický software pro PC – HyStar Post Processing.

Kvůli dostatečné přesnosti stanovení byl každý vzorek i jednotlivé koncentrace kalibrační křivky proměřeny čtyřikrát.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro stanovení kyseliny askorbové z různých druhů ovoce (citron, pomeranč, mandarinka, kiwi, jablko Gloster, Golden Delicious a Gala, grep bílý a červený, limeta, pomelo, hruška, jahody) byl použit postup izolace kyseliny askorbové, který je uveden v kapitole 5.2 a stanovení technikou HPLC/UV uvedeno v kapitole 5.3.

### 6.1 Kalibrační křivka stanovení standardu kyseliny askorbové metodou HPLC/UV

Pro sestrojení kalibrační křivky byl použit standard kyseliny askorbové. S přesností na 4 desetinná místa byl navážen a připraven zásobní roztok o koncentraci kyseliny askorbové  $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Ze zásobního roztoku kyseliny askorbové byly připraveny dalším ředěním směsí mobilní fáze ( $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} : \text{H}_3\text{PO}_4$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5) kalibrační roztoky o koncentraci 7; 6; 5; 4; 3; 2; 1; 0,1; 0,05; 0,025; 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Měření kalibrační řady standardu pro 11 různě koncentrovaných roztoků bylo provedeno postupem popsáním v kapitole 5.3. Kalibrační křivka byla sestrojena jako závislost plochy píku (mAU.s) na koncentraci kyseliny askorbové ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce (tab. 6) a v grafu kalibrační křivky (obr. 5).

Sestrojená kalibrační křivka má rovnici regrese:  $y = 11\,545 \cdot x + 57,931$

kde: y ... plocha píku [mAU.s]

x ... obsah kyseliny askorbové [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ].

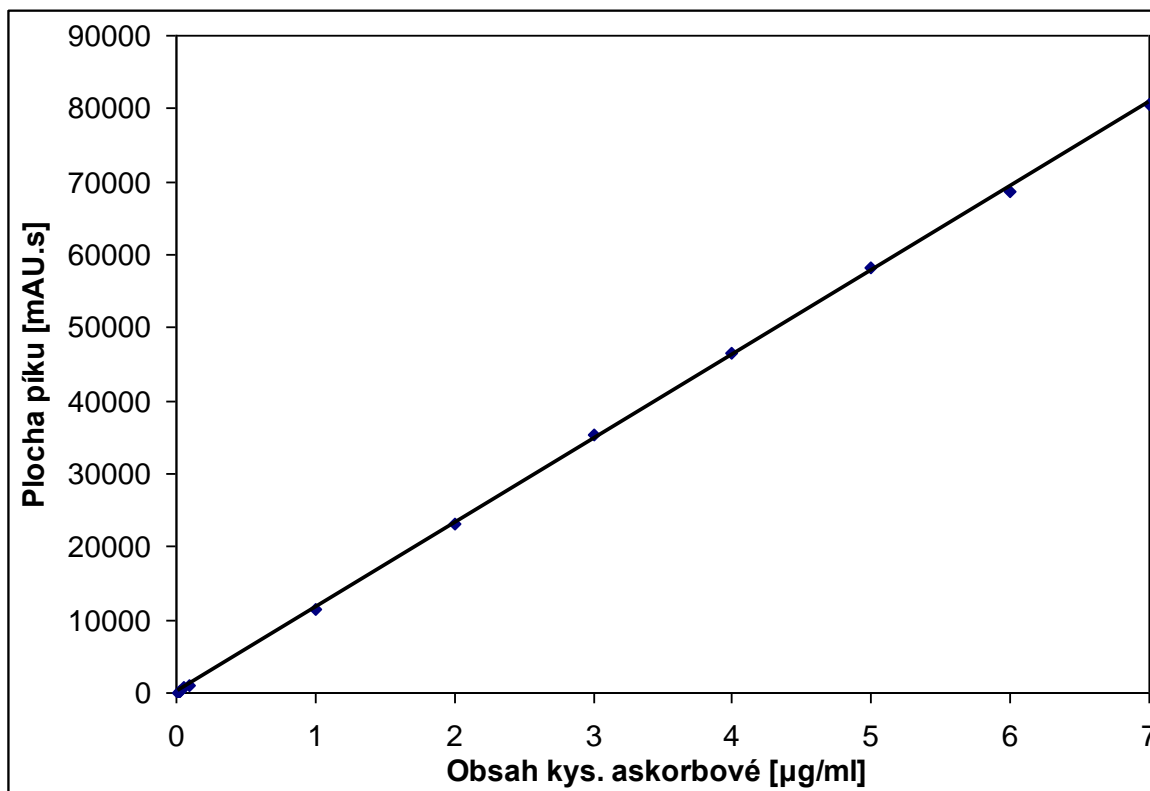
Korelační koeficient závislosti plochy píku na obsahu kyseliny askorbové:  $R = 0,9999$ .

Chromatogramy pro vybrané koncentrace standardu kyseliny askorbové jsou uvedeny v příloze (P I-II).



Tab. 6. Průměrné plochy píků standardu kyseliny askorbové

Koncentrace kyseliny askorbové [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	Průměrná plocha píku [mAU.s]	s
0,01	67,11	1,7
0,025	246,81	1,5
0,05	657,22	2,8
0,1	1036,33	3,5
1	11530,74	0,3
2	23064,73	3,2
3	35247,13	6,5
4	46467,81	3,7
5	58324,40	0,4
6	68691,47	3,8
7	80700,89	8,8



Obr. 5. Kalibrační křivka kyseliny askorbové

## 6.2 Stanovení kyseliny askorbové v jednotlivých druzích ovoce

Ve třinácti druzích ovoce (17 vzorků) bylo provedeno stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC/UV postupem uvedeným v kapitole 5.2 a 5.3.

U každého druhu ovoce (citron, pomeranč, mandarinka, limeta, jablko Gloster, Golden Delicious a Gala, grep bílý a červený, kiwi, pomelo, hruška, jahody) bylo provedeno stanovení kyseliny askorbové ihned po zakoupení, poté bylo ovoce skladováno v lednici a v předem stanovených intervalech (dvakrát za týden) bylo provedeno opětovné stanovení kyseliny askorbové až do konce trvanlivosti jednotlivých druhů ovoce.

U předem získaných šťáv bylo provedeno opětovné stanovení kyseliny askorbové denně až do konce trvanlivosti jednotlivých šťáv.

Metodou HPLC/UV zjištěné plochy píků kyseliny askorbové v ovoci - šťávě byly dosazeny do regresní rovnice kalibrační přímky, ze které byly vypočteny jednotlivé koncentrace kyseliny askorbové v prvním dnu měření (čerstvý vzorek) a ve skladovaných vzorcích ovoce.

Zjištěné hodnoty obsahu kyseliny askorbové byly přepočteny na  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  šťávy.

### 6.2.1 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v citronu

Námi analyzované vzorky citronu byly uskladněny 28 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (28 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků citronu.

V tabulce 7 jsou uvedena zjištěná množství kyseliny askorbové v citronu – šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

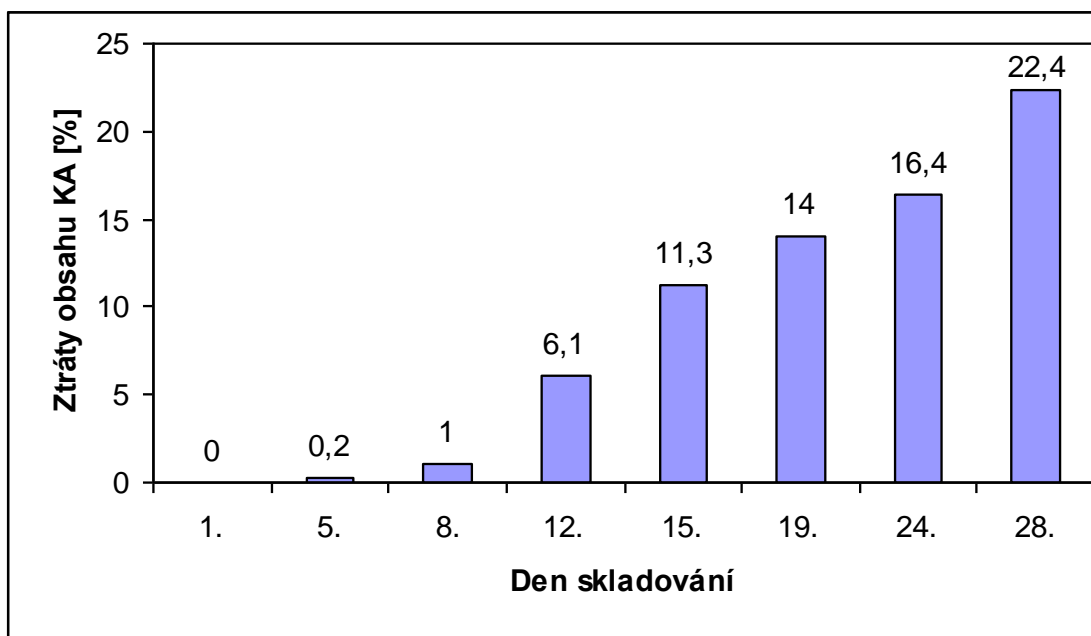
Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z citronu a ve vzorku skladovaném 28 dní (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P III).

Obsah kyseliny askorbové v citronu dle literárních zdrojů [9], [38] a [40] byl v rozmezí 30 – 64  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  v jedlém podílu. Naším měřením bylo zjištěno, že ve šťávě z citronu 1. den měření (čerstvý vzorek) byl průměrný obsah kyseliny askorbové 96,433  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Šťáva z citronu obsahuje větší množství kyseliny askorbové než jedlý podíl. Jedlý podíl (dužnina) obsahuje i složky jako jsou sacharidy (polysacharidy – vláknina), které spoluvytváří texturu ovoce, a tím je snížen podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Obsah kyseliny askorbové je u jednotlivých druhů ovoce proměnlivý. Vlivů, jenž podmiňují variabilitu obsahu

kyseliny askorbové, je celá řada (odrůda, zralost plodu, způsob pěstování, půdní a klimatické podmínky atd.).

Tab. 7. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronu – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	24558,85	96,433	1,05	96,433 ± 1,235	0
5.	23126,60	96,280	0,05	96,280 ± 0,059	0,2
8.	22026,90	95,506	1,01	95,506 ± 1,188	1,0
12.	21307,92	90,587	2,14	90,587 ± 2,518	6,1
15.	20089,60	85,512	2,03	85,512 ± 2,388	11,3
19.	19276,96	82,968	4,81	82,968 ± 5,660	14,0
24.	18718,51	80,645	3,02	80,645 ± 3,553	16,4
28.	17517,54	74,856	0,46	74,856 ± 0,541	22,4



Obr. 6. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v citronu – šťávě v průběhu skladování

Ze zjištěných hodnot uvedených v tab. 7 a z grafického znázornění (obr. 6) vyplývá, že obsah kyseliny askorbové ve šťávě z citronu se po 5 dnech skladování snížil minimálně (o 0,153 mg.100 g<sup>-1</sup>). K výraznější ztrátě kyseliny askorbové v průběhu skladování došlo mezi 8. a 12. dnem, o 5,1 %. Asi v polovině doby skladování (15. den) byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové na 88,7 % původního obsahu. K největším ztrátám kyseliny askorbové došlo mezi 24. a 28. dnem (o 6 %). Po 28 dnech skladování bylo provedeno poslední měření a ztráty kyseliny askorbové po 28 dnech skladování jsou 22,4 %.

### 6.2.2 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v citronové šťávě

Stanovení kyseliny askorbové v citronu v průběhu skladování bylo také provedeno přímo ve šťávě získané z citronu, která byla uskladněna v lednici jak v otevřené nádobě, tak i v uzavřené nádobě. Citronová šťáva byla v uzavřené nádobě skladována 14 dnů, v otevřené nádobě 5 dnů vzhledem k probíhající oxidaci.

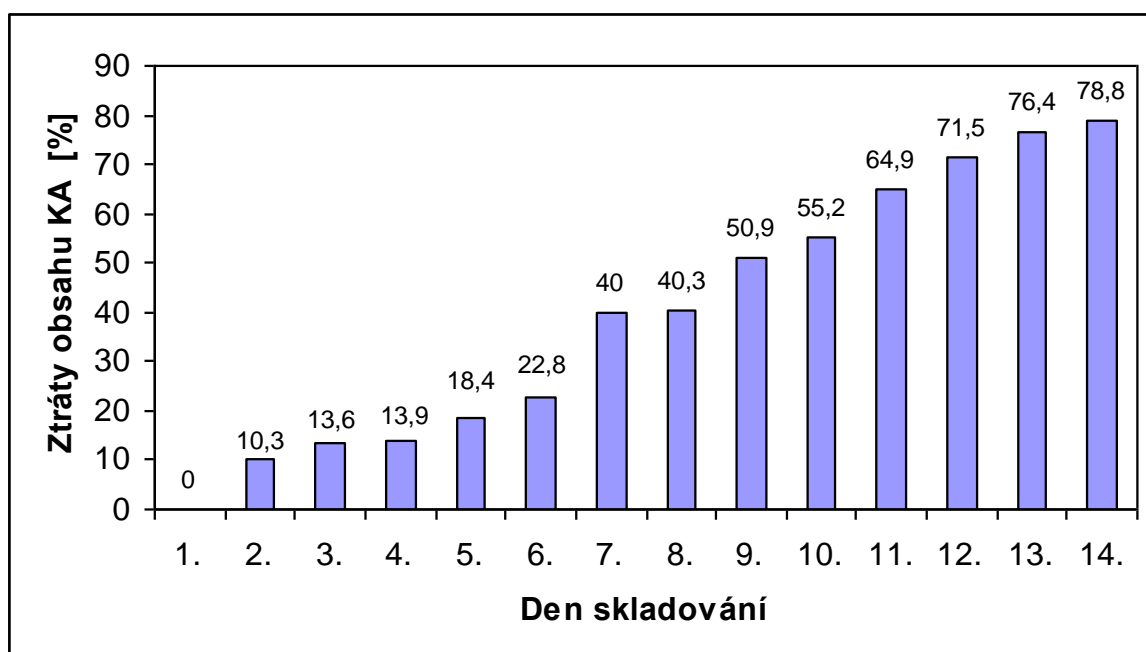
Tabulka 8 uvádí zjištěná množství kyseliny askorbové v citronové šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku v uzavřené nádobě.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z citronové šťávy skladované v uzavřené nádobě a ve vzorku skladovaném 14 dní (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P IV).

V čerstvé citronové šťávě (1. den měření) byl průměrný obsah kyseliny askorbové 68,246 mg.100 g<sup>-1</sup>. Z výsledků měření (tab. 8) plyne, že obsah kyseliny askorbové v citronové šťávě se už po prvním dnu skladování snížil o 10,3 %. Po 6 dnech skladování byla ztráta kyseliny askorbové 22,8 %, výraznější pokles nastal v polovině doby skladování (7. den), kdy bylo zjištěno, že obsah kyseliny askorbové klesl na 60 % původního obsahu. Po 11 dnech skladování se obsah kyseliny askorbové snížil na 1/3 původního obsahu. Poslední měření obsahu kyseliny askorbové bylo provedeno po 14 dnech skladování, kdy ztráta kyseliny askorbové činila 78,8 % (obr. 7).

Tab. 8. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě skladované v uzavřené nádobě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	15887,94	68,246	1,54	68,246 ± 1,812	0
2.	14361,84	61,193	0,39	61,193 ± 0,459	10,3
3.	13925,55	58,998	1,09	58,998 ± 1,283	13,6
4.	13725,33	58,791	0,57	58,791 ± 0,671	13,9
5.	12999,45	55,673	3,28	55,673 ± 3,859	18,4
6.	12706,28	52,653	1,10	52,653 ± 1,294	22,8
7.	9535,72	40,933	2,02	40,933 ± 2,377	40,0
8.	9660,45	40,725	0,51	40,725 ± 0,600	40,3
9.	7791,31	33,500	1,42	33,500 ± 1,671	50,9
10.	7221,93	30,586	0,11	30,586 ± 0,129	55,2
11.	5604,97	23,924	1,16	23,924 ± 1,365	64,9
12.	4611,62	19,467	1,85	19,467 ± 2,177	71,5
13.	3838,45	16,135	0,71	16,135 ± 0,835	76,4
14.	3463,41	14,482	2,11	14,482 ± 2,483	78,8



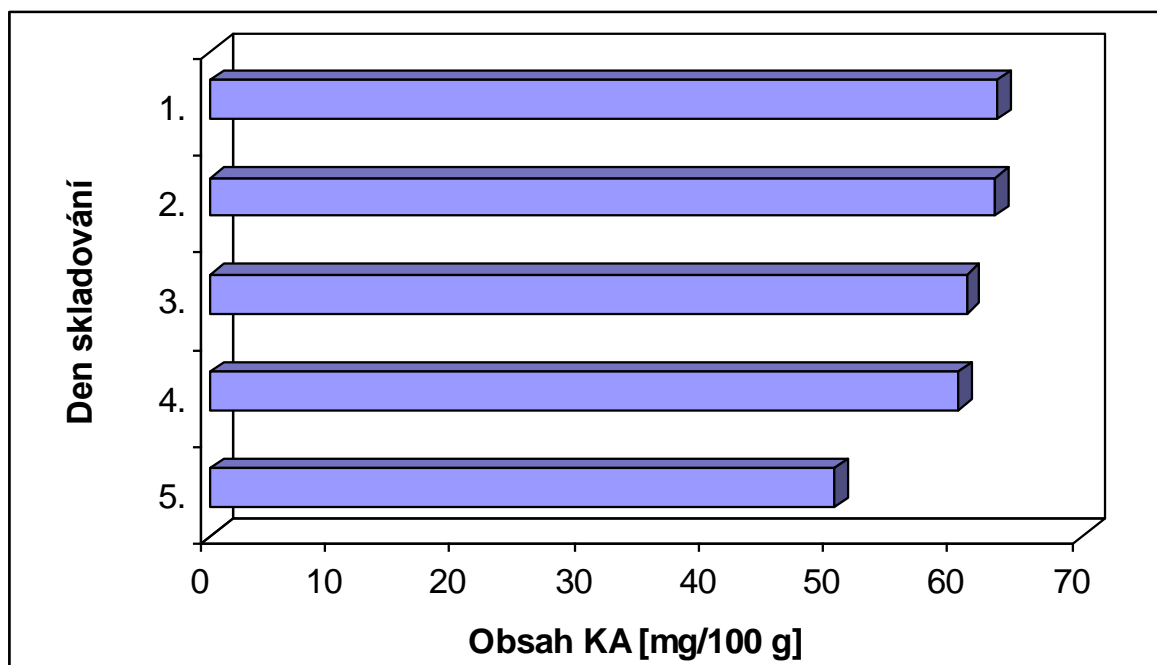
Obr. 7. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě (skladované v uzavřené nádobě) v průběhu skladování

Vypočtená množství kyseliny askorbové v citronové šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku v otevřené nádobě jsou uvedena v následující tabulce (tab. 9).

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové (1. den stanovení a 5. den - poslední den skladování) vzorku z citronové šťávy skladované v otevřené nádobě jsou uvedeny v příloze (P V).

Tab. 9. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě skladované v otevřené nádobě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	14844,12	63,256	1,04	63,256 ± 1,224	0
2.	14458,09	62,964	0,97	62,964 ± 1,141	0,5
3.	14213,11	60,717	0,43	60,717 ± 0,506	4,0
4.	14065,82	60,107	2,06	60,107 ± 2,424	5,0
5.	11694,81	50,149	0,28	50,149 ± 0,329	20,7



Obr. 8. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě (skladované v otevřené nádobě) v průběhu skladování

Z výsledků měření vyplývá, že obsah kyseliny askorbové v citronové šťávě se po 1 dnu skladování snížil minimálně (o 0,292 mg.100 g<sup>-1</sup>). Předposlední den skladování byla zjištěna ztráta obsahu kyseliny askorbové 5 %, zatímco v následujícím dnu (5. den) měření došlo k výraznému poklesu (o 15,7 %) oproti předešlému dnu. V posledním dnu měření byl průměrný obsah kyseliny askorbové 50,149 mg.100 g<sup>-1</sup>. Po srovnání hodnot v čerstvém vzorku citronové šťávy bylo zjištěno, že ztráta kyseliny askorbové po 5 dnech skladování činila 20,7 %, což odpovídá i hodnotám zjištěným ve vzorku citronu po 28 dnech skladování. Obsah kyseliny askorbové v citronové šťávě skladované v otevřené nádobě je znázorněn i na obr. 8.

Porovnáním výsledků analýzy provedené v citronové šťávě uskladněné v lednici jak v otevřené nádobě, tak i v uzavřené nádobě bylo zjištěno, že ztráty kyseliny askorbové po 5 dnech skladování citronové šťávy v otevřené i uzavřené nádobě jsou přibližně stejné. Ztráta kyseliny askorbové po 5 dnech skladování citronové šťávy v uzavřené nádobě je 18,4 %, v otevřené nádobě 20,7 %.

Vzhledem ke zhoršujícím se organoleptickým vlastnostem lze skladovat předem získanou citronovou šťávu v uzavřené nádobě delší dobu než v otevřené nádobě. V našem případě byla citronová šťáva v uzavřené nádobě skladována o 9 dní déle než šťáva skladovaná v otevřené nádobě. Celková ztráta kyseliny askorbové v citronové šťávě skladované v uzavřené nádobě byla 78,8 % proti původnímu obsahu.

### 6.2.3 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v pomeranči

Námi analyzované vzorky pomeranče byly uskladněny 37 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (37 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků pomeranče.

V tabulce 10 jsou uvedena zjištěná množství kyseliny askorbové v pomeranči – šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové v čerstvém vzorku (1. den stanovení) pomeranče a ve vzorku skladovaném 37 dní jsou uvedeny v příloze (P VI).

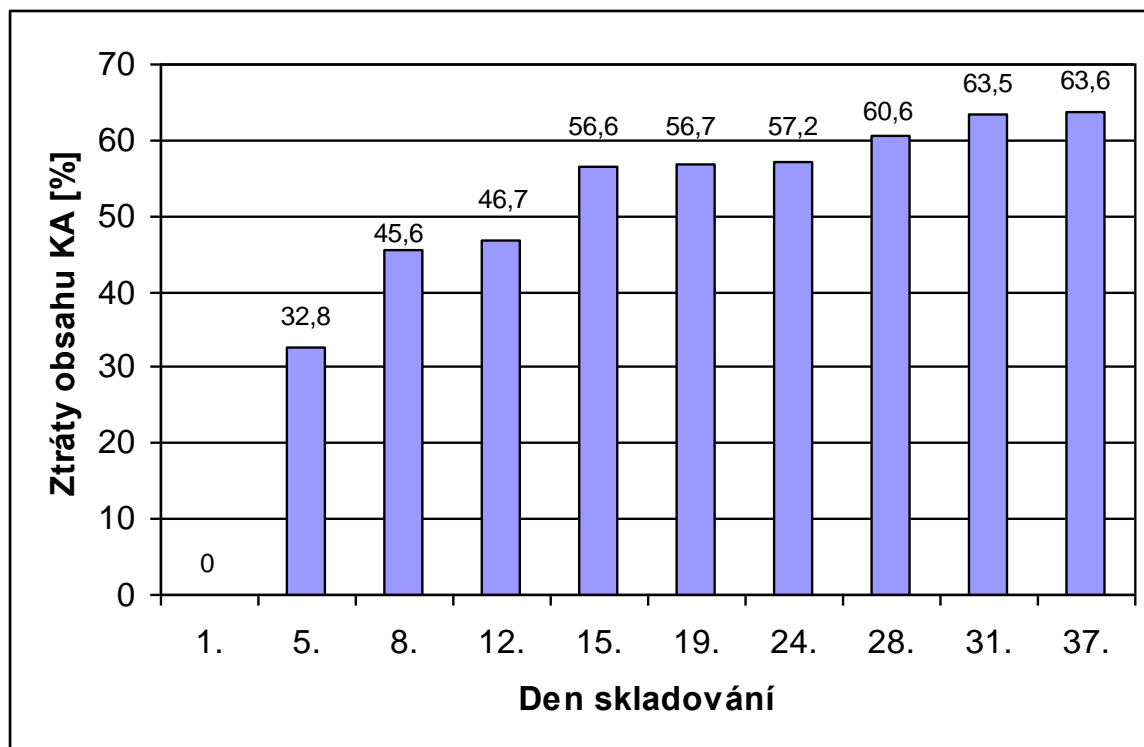
Dle literárních zdrojů [9], [38], [39], [40] a [41] byl obsah kyseliny askorbové v pomeranči v rozmezí 30 - 71 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. Námi provedenou analýzou bylo zjištěno, že ve šťávě z pomeranče 1. den měření (čerstvý vzorek) byl průměrný obsah kyseliny askorbové 171,206 mg.100 g<sup>-1</sup>. Jedlý podíl (dužnina) obsahuje menší množství kyseliny askorbové než šťáva, protože dužnina obsahuje i složky jako jsou polysacharidy - vláknina, a tím je snížen podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Obsah kyseliny askorbové v pomerančích závisí na mnoha faktorech, lze sem zahrnout např. na odrůda – více kyseliny askorbové obsahují raně zrající plody. [80]

Tab. 10. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomeranči – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	45692,51	171,206	1,20	171,206 ± 1,412	0
5.	26943,01	115,128	3,93	115,128 ± 4,624	32,8
8.	21454,71	93,182	1,10	93,182 ± 1,294	45,6
12.	17485,12	91,201	0,34	91,201 ± 0,400	46,7
15.	17304,11	74,349	2,27	74,349 ± 2,671	56,6
19.	17370,30	74,299	1,87	74,299 ± 2,200	56,7
24.	17640,31	73,323	4,55	73,323 ± 5,354	57,2
28.	15689,62	67,498	2,19	67,498 ± 2,577	60,6
31.	14586,16	62,433	0,33	62,433 ± 0,388	63,5
37.	14812,02	62,314	3,01	62,314 ± 3,542	63,6

Z tabulky 10 plyne, že již po 5 dnech skladování vzorků pomeranče byl zaznamenán výrazný pokles (32,8 %) obsahu kyseliny askorbové. Po 15 dnech skladování bylo v pomeranči jen 43,4 % původního obsahu kyseliny askorbové, tato hodnota se do konce doby skladování (37 dnů) snížila pouze o 7 %, což je znázorněno i na obr. 9. Poslední měření bylo provedeno po 37 dnech skladování, celková ztráta obsahu kyseliny askorbové je 63,6 %.





Obr. 9. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v pomeranči – šťávě v průběhu skladování

#### 6.2.4 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v pomerančové šťávě

Stanovení kyseliny askorbové v pomeranči v průběhu skladování bylo také provedeno přímo ve šťávě získané z pomeranče, která byla uskladněna v lednici jak v uzavřené nádobě, tak i v otevřené nádobě. Pomerančová šťáva byla v uzavřené nádobě skladována 7 dnů, v otevřené nádobě 4 dny vzhledem k probíhající oxidaci a organoleptickým změnám.

V tabulce 11 jsou uvedena zjištěná množství kyseliny askorbové v pomerančové šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

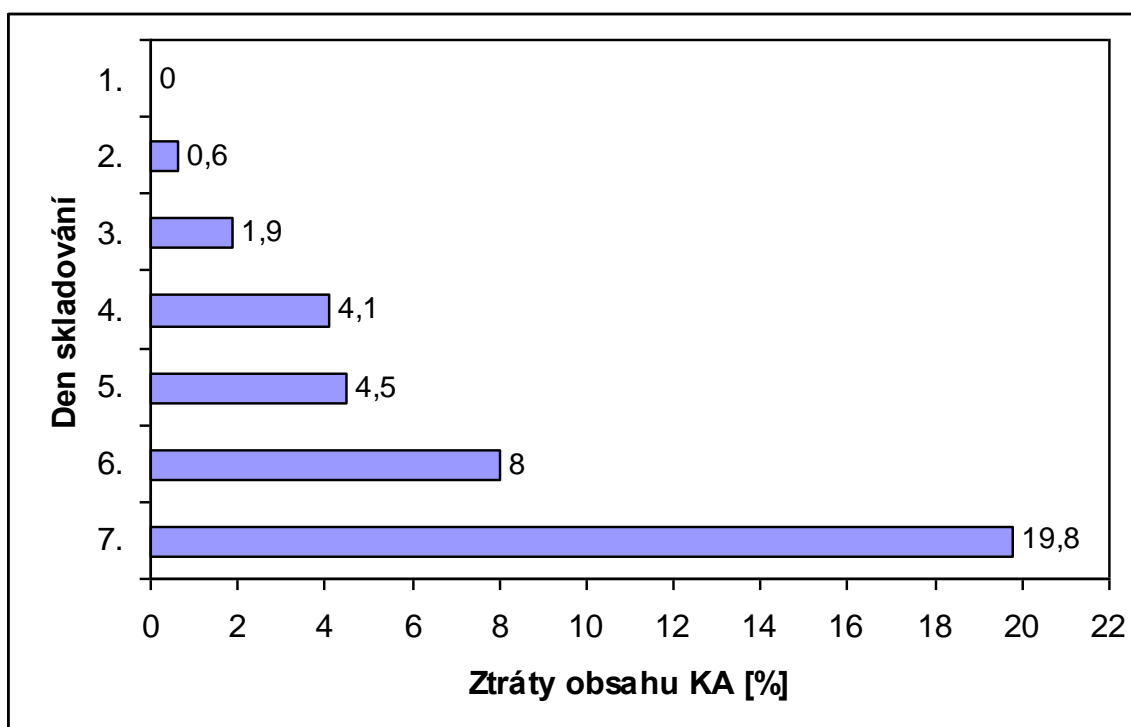
Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z pomerančové šťávy skladované v uzavřené nádobě a ve vzorku skladovaném 7 dní (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P VII).

1. den měření byl v čerstvé pomerančové šťávě průměrný obsah kyseliny askorbové  $65,206 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Obsah kyseliny askorbové v pomerančové šťávě se po 3 dnech skladování snížil jen málo (o 1,9 %). Čtvrtý den skladování začalo docházet k výraznějším ztrátám kyseliny askorbové (4,1 %), mezi 5. a 6. dnem skladování klesl obsah kyseliny askorbové

o dalších 3,5 %, mezi 6. a 7. dnem ještě o 11,8 %. Ztráta kyseliny askorbové po 7 dnech skladování tedy činila 19,8 % (obr. 10).

Tab. 11. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě skladované v uzavřené nádobě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	15459,98	65,206	1,43	65,206 ± 1,683	0
2.	15313,49	64,804	1,70	64,804 ± 2,001	0,6
3.	14910,69	63,961	2,44	63,961 ± 2,871	1,9
4.	14617,29	62,522	0,65	62,522 ± 0,765	4,1
5.	14849,73	62,242	0,28	62,242 ± 0,329	4,5
6.	13892,56	59,996	1,10	59,996 ± 1,294	8,0
7.	12334,86	52,279	2,02	52,279 ± 2,377	19,8



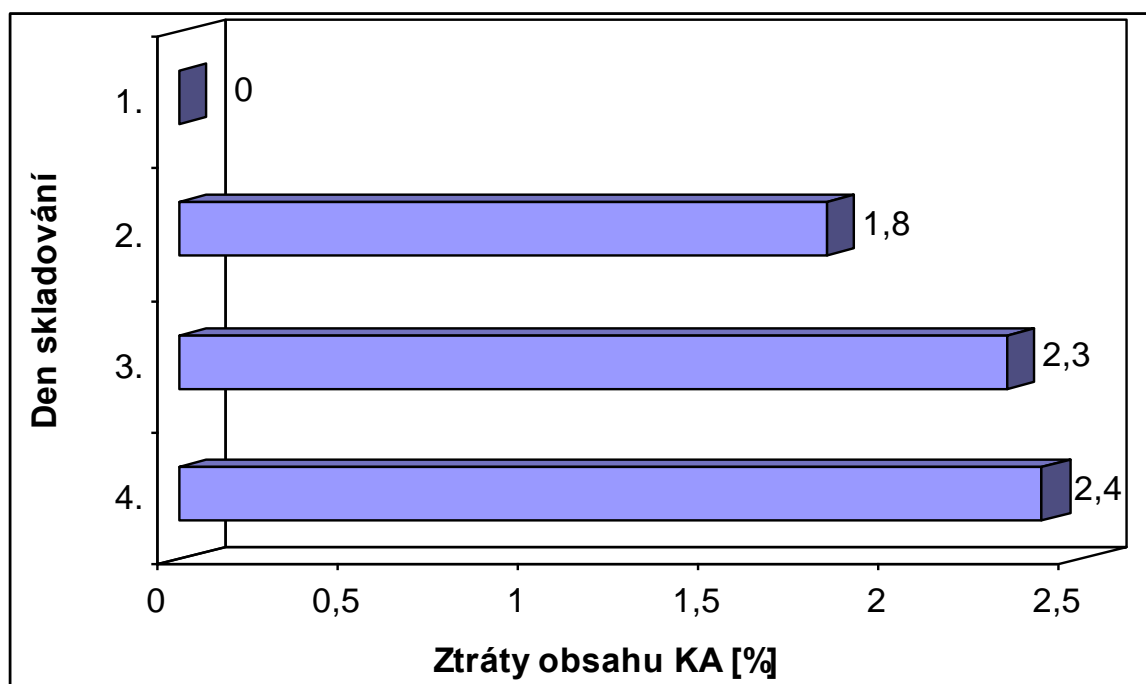
Obr. 10. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě (uzavřená nádoba) v průběhu skladování

Zjištěná množství kyseliny askorbové v pomerančové šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku jsou uvedena v tabulce 12.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z pomerančové šťávy skladované v otevřené nádobě a ve vzorku skladovaném 4 dny (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P VIII).

Tab. 12. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě skladované v otevřené nádobě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	19240,06	82,270	2,10	82,270 ± 2,471	0
2.	18759,26	80,802	0,14	80,802 ± 0,165	1,8
3.	18981,59	80,384	0,27	80,384 ± 0,318	2,3
4.	18829,16	80,336	1,17	80,336 ± 1,377	2,4



Obr. 11. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě (skladované v otevřené nádobě) v průběhu skladování

Z hodnot uvedených v tab. 12 a z grafického znázornění (obr. 11) plyne, že po 1. dnu skladování se snížil obsah kyseliny askorbové v pomerančové šťávě o 1,8 %. Vzhledem ke zhoršujícím se organoleptickým vlastnostem bylo měření ukončeno po 4 dnech skladování. V posledním dnu měření (4. den) bylo zjištěno, že průměrný obsah kyseliny askorbové klesl o 2,4 % proti původnímu obsahu.

Porovnáním tab. 11. a 12. bylo zjištěno, že v pomerančové šťávě uskladněné v lednici v uzavřené nádobě je ztráta obsahu kyseliny askorbové po 4 dnech skladování 4,1 %, v otevřené nádobě je 2,4 %.

Předem získanou pomerančovou šťávu lze skladovat v otevřené nádobě kratší dobu než v uzavřené nádobě. Ve šťávě skladované v uzavřené nádobě byla změna organoleptických vlastností pozorována o 3 dny později než ve šťávě skladované v otevřené nádobě.

### 6.2.5 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v mandarince

Námi analyzované vzorky mandarinky byly uskladněny 19 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (19 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků mandarinky.

Výsledky zjištěného množství kyseliny askorbové v mandarince - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku jsou uvedeny v tabulce 13.

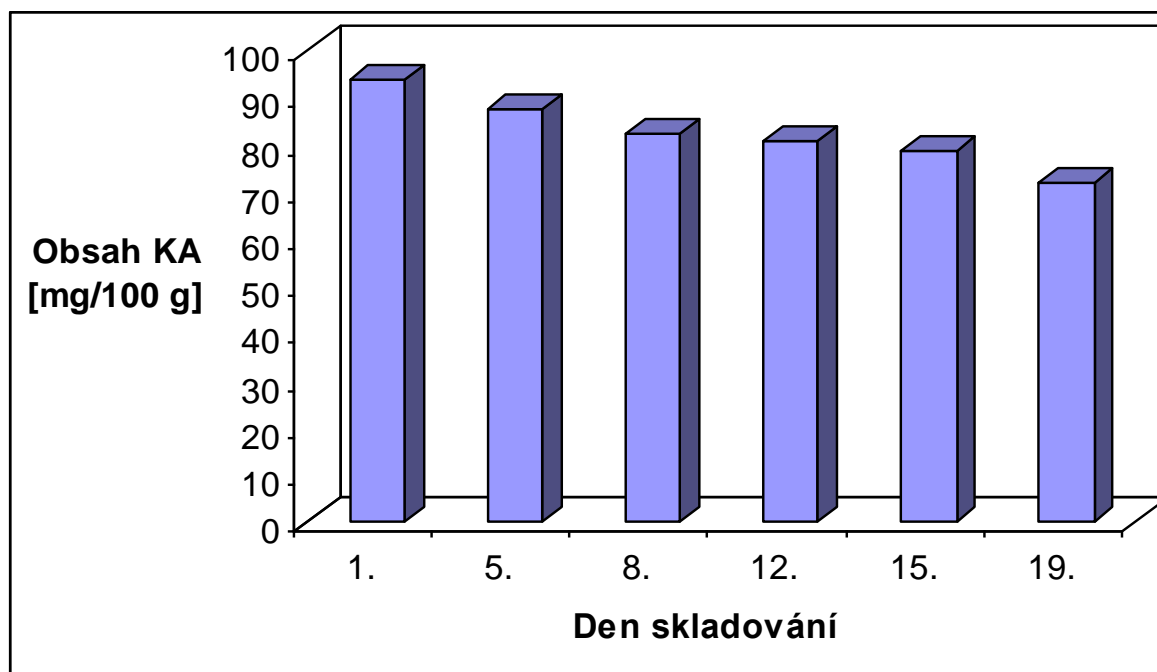
Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z mandarinky a ve vzorku skladovaném 19 dní jsou uvedeny v příloze (P IX).

Tab. 13. Obsah kyseliny askorbové (KA) v mandarince – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	21762,24	93,755	1,31	93,755 ± 1,540	0
5.	20637,03	87,613	4,03	87,613 ± 4,745	6,6
8.	19217,65	82,142	0,39	82,142 ± 0,458	12,4
12.	18751,09	80,766	2,96	80,766 ± 3,482	13,9
15.	18436,31	78,823	0,46	78,823 ± 0,544	15,9
19.	16766,66	71,885	5,54	71,885 ± 6,522	23,3

Literární zdroje [38] a [39] uvádí, že obsah kyseliny askorbové v mandarince je v rozmezí 16 - 52 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. Naším měřením bylo zjištěno, že ve šťávě z mandarinky byl průměrný obsah kyseliny askorbové 93,755 mg.100 g<sup>-1</sup>. Šťáva obsahuje větší množství kyseliny askorbové než jedlý podíl, vzhledem k tomu, že jedlý podíl (dužnina) obsahuje i složky jako jsou sacharidy (polysacharidy - vláknina). Tyto složky dužniny spoluvytváří texturu ovoce, a proto je v dužnině méně šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Množství kyseliny askorbové také kolísá v závislosti na původu rostliny, geografických podmínkách, době sklizně, klimatu a dalších.

Z naměřených hodnot (tab. 13) je zřejmé, že po 5 dnech skladování byla ztráta kyseliny askorbové v mandarince 6,6 %. K největším ztrátám došlo mezi 15. a 19. dnem skladování, byl zaznamenán pokles o 7,4 %. Ve vzorku mandarinky bylo poslední měření obsahu kyseliny askorbové provedeno po 19 dnech skladování - ztráta kyseliny askorbové po 19 dnech skladování je 23,3 %. Na obr. 12 je znázorněn průměrný obsah kyseliny askorbové v průběhu skladování.



Obr. 12. Obsah kyseliny askorbové (KA) v mandarince – šťávě v průběhu skladování

### 6.2.6 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v limetě

Námi analyzované vzorky limety byly uskladněny 24 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (24 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků limety. Limety se oproti citronům hůře skladují, protože rychleji vysychají a jejich kůra brzy ztvrdne. [80]

Tabulka 14 uvádí průměrná množství kyseliny askorbové v limetě - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z limety a ve vzorku skladovaném 24 dní (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P X).

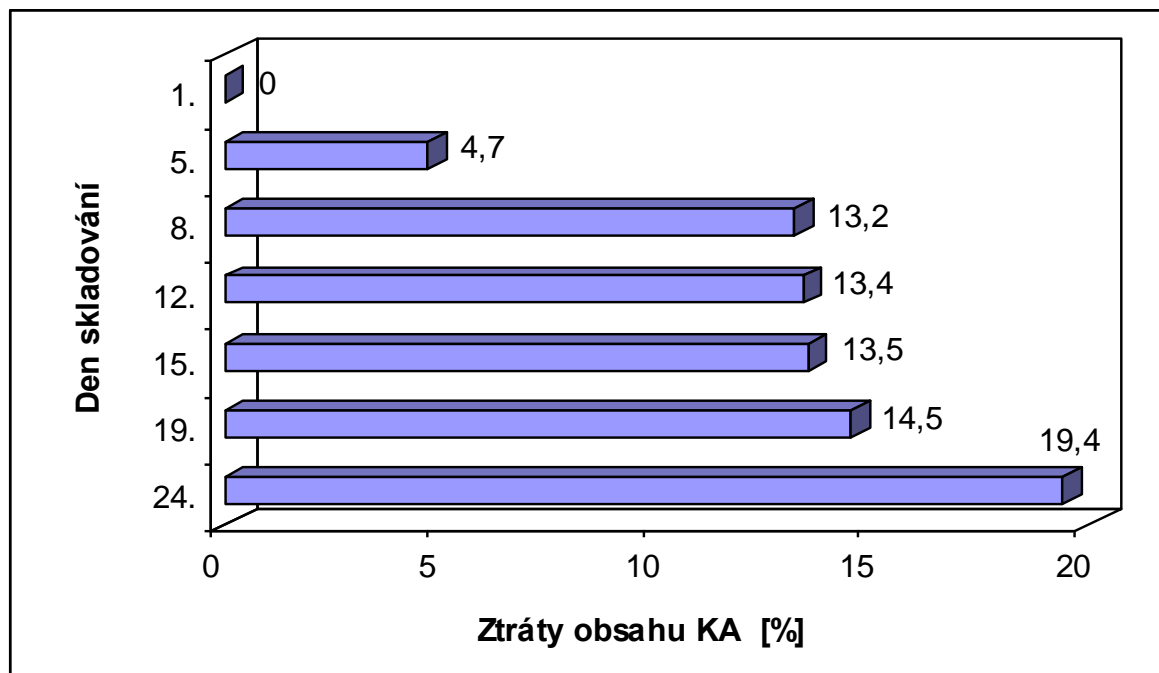
Obsah kyseliny askorbové v limetě dle literárních zdrojů [40] a [41] byl v rozmezí 27 - 49 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. Námi provedeným měřením bylo zjištěno, že šťáva z limety 1. den měření obsahovala 99,364 mg.100 g<sup>-1</sup> kyseliny askorbové. Jedlý podíl limety, tedy dužnina obsahuje méně kyseliny askorbové než šťáva, vzhledem k tomu, že dužnina obsahuje

i složky jako jsou polysacharidy – vláknina, které spoluvytváří texturu ovoce, a tím je snížen podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Mezi jednotlivými druhy však existují velké rozdíly v obsahu kyseliny askorbové. Množství kyseliny askorbové závisí na odrůdě, zralosti, podmínkách růstu atd.

Tab. 14. Obsah kyseliny askorbové (KA) v limetě – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	23142,90	99,364	1,14	99,364 ± 1,341	0
5.	22100,47	94,739	0,72	94,739 ± 0,847	4,7
8.	20373,43	86,289	4,77	86,289 ± 5,613	13,2
12.	20336,71	86,061	3,71	86,061 ± 4,365	13,4
15.	20073,72	85,941	1,13	85,941 ± 1,329	13,5
19.	19947,77	84,917	2,34	84,917 ± 2,753	14,5
24.	18702,55	80,067	1,79	80,067 ± 2,106	19,4

Výraznější pokles obsahu kyseliny askorbové byl zaznamenán mezi 5. a 8. dnem skladování (o 8,5 %). V polovině doby skladování byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové na 86,6 % původního obsahu. Poslední měření obsahu kyseliny askorbové bylo provedeno po 24 dnech, kdy šťáva z limety obsahovala  $80,067 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Po srovnání hodnot v čerstvém vzorku limety bylo zjištěno, že ztráta kyseliny askorbové po 24 dnech skladování činila 19,4 %, což je znázorněno i na obr. 13.



Obr. 13. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v limetě – šťávě v průběhu skladování

### 6.2.7 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v bílém grepu

Námi analyzované vzorky bílého grepu byly uskladněny 28 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (28 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků bílého grepu.

V tabulce 15 jsou uvedena průměrná množství kyseliny askorbové v bílém grepu - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

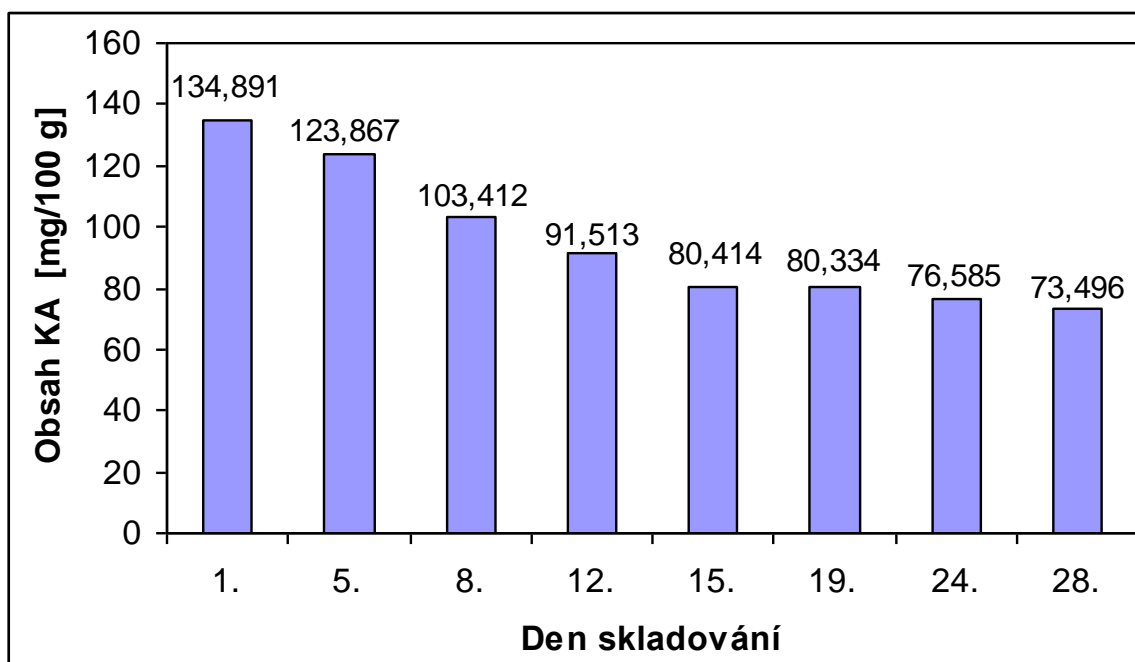
Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové v bílém grepu - šťávě (1. a 28. den skladování) jsou uvedeny v příloze (P XI).

V literárních zdrojích [9], [38], [39] a [41] je uvedeno, že grep průměrně obsahuje 24 - 70  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  kyseliny askorbové v jedlém podílu. V prvním dnu našeho měření bylo zjiště-

no, že ve šťávě z bílého grepu byl průměrný obsah kyseliny askorbové 134,891 mg.100 g<sup>-1</sup>. Jedlý podíl obsahuje menší množství kyseliny askorbové než šťáva, protože jsou v něm obsaženy i složky jako jsou polysacharidy – vláknina, a tím je snížen podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Obsah kyseliny askorbové není stálý, kolísá např. podle odrůdy, způsobu pěstování a zralosti plodu.

Tab. 15. Obsah kyseliny askorbové (KA) v bílém grepu – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	30859,90	134,891	2,36	134,891 ± 2,777	0
5.	28960,94	123,867	1,42	123,867 ± 1,671	8,2
8.	24274,45	103,412	4,75	103,412 ± 5,589	23,3
12.	21366,35	91,513	3,77	91,513 ± 4,436	32,2
15.	18715,38	80,414	0,30	80,414 ± 0,353	40,3
19.	18923,53	80,334	1,99	80,334 ± 2,342	40,4
24.	17751,08	76,585	1,41	76,585 ± 1,659	43,2
28.	13330,05	73,496	0,86	73,496 ± 1,012	45,5



Obr. 14. Obsah kyseliny askorbové (KA) v bílém grepu – šťávě v průběhu skladování



Z výše uvedené tab. 15 vyplývá, že po 5 dnech skladování bílého grepu obsah kyseliny askorbové klesl o 8,2 %. Mezi 5. a 8. dnem skladování byl zjištěn značný úbytek kyseliny askorbové, rozdíl v obsahu kyseliny askorbové dosáhl 15,1 %. Asi v polovině doby skladování (15. den) byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové na 59,7 % původního obsahu. V průběhu posledních 4 dnů skladování už došlo jen k minimálním změnám v obsahu kyseliny askorbové (obr. 14).

### 6.2.8 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v červeném grepu

Námi analyzované vzorky červeného grepu byly uskladněny 28 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (28 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků červeného grepu.

Zjištěná množství kyseliny askorbové v červeném grepu - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku jsou uvedena v tabulce 16.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové (1. den stanovení a 28. den - poslední den skladování) vzorku z červeného grepu jsou uvedeny v příloze (P XII).

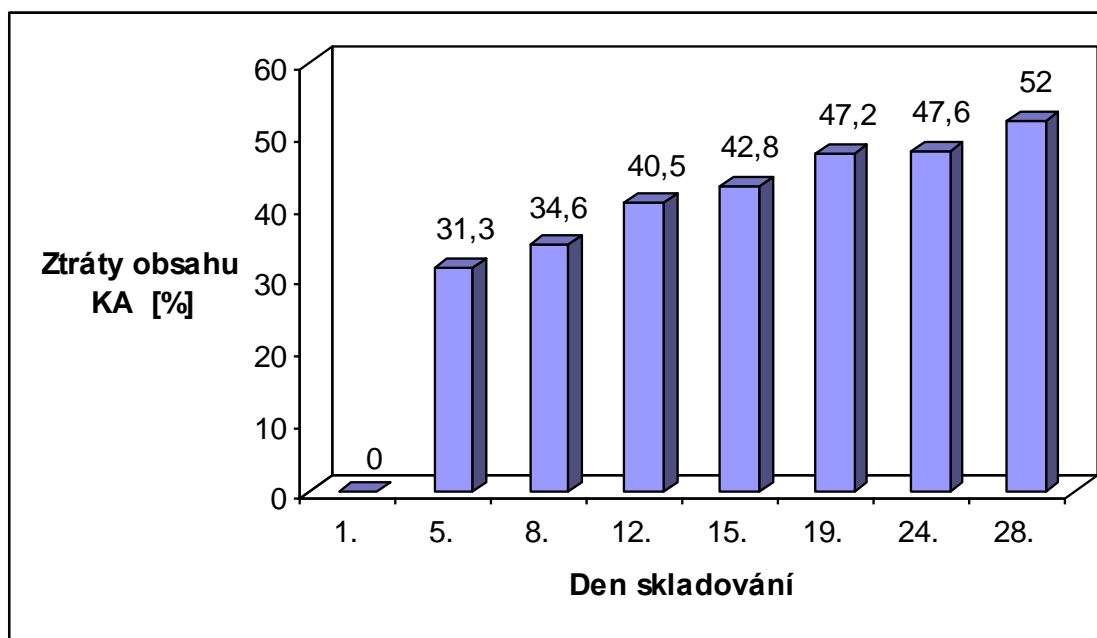
Tab. 16. Obsah kyseliny askorbové (KA) v červeném grepu – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	28991,52	126,591	3,92	126,591 ± 4,612	0
5.	20387,18	87,025	1,37	87,025 ± 1,612	31,3
8.	19397,99	82,750	0,74	82,750 ± 0,871	34,6
12.	17611,27	75,352	1,62	75,352 ± 1,906	40,5
15.	17053,91	72,412	0,78	72,412 ± 0,918	42,8
19.	15715,52	66,805	1,63	66,805 ± 1,918	47,2
24.	15637,90	66,306	3,40	66,306 ± 4,001	47,6
28.	14204,75	60,822	2,88	60,822 ± 3,389	52,0

Grep obsahuje dle literárních zdrojů [9], [38], [39] a [41] 24 - 70 mg.100 g<sup>-1</sup> kyseliny askorbové v jedlém podílu. Naším měřením bylo zjištěno, že ve šťávě z červeného grepu byl v 1. dnu měření stanoven průměrný obsah kyseliny askorbové 126,591 mg.100 g<sup>-1</sup>. Šťáva z červeného grepu obsahuje více kyseliny askorbové než jedlý podíl, vzhledem

k tomu, že jedlý podíl, tedy dužnina obsahuje i složky jako jsou sacharidy (polysacharidy – vláknina), které spoluvytváří texturu ovoce, a tím se snižuje podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Množství kyseliny askorbové závisí na původu rostliny, vývojovém stádiu plodu, genotypu, době sklizně atd.

Z grafu (obr. 15) plyne, že největší ztráty kyseliny askorbové ve šťávě z červeného grepu byly zjištěny už po 5 dnech skladování, kdy došlo k poklesu téměř o 1/3 obsahu kyseliny askorbové. Asi v polovině doby skladování (15. den) byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové na 57,2 % původního obsahu. Po 28 dnech skladování vzorku červeného grepu se obsah kyseliny askorbové snížil na 48 % původního obsahu.



Obr. 15. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v červeném grepu – šťávě v průběhu skladování

### 6.2.9 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jablku Gloster

Námi analyzované vzorky jablka Gloster byly uskladněny 24 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové.

Zjištěná množství kyseliny askorbové v jablku Gloster - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku jsou uvedena v tabulce 17.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z jablka Gloster a ve vzorku skladovaném 24 dní jsou uvedeny v příloze (P XIII).

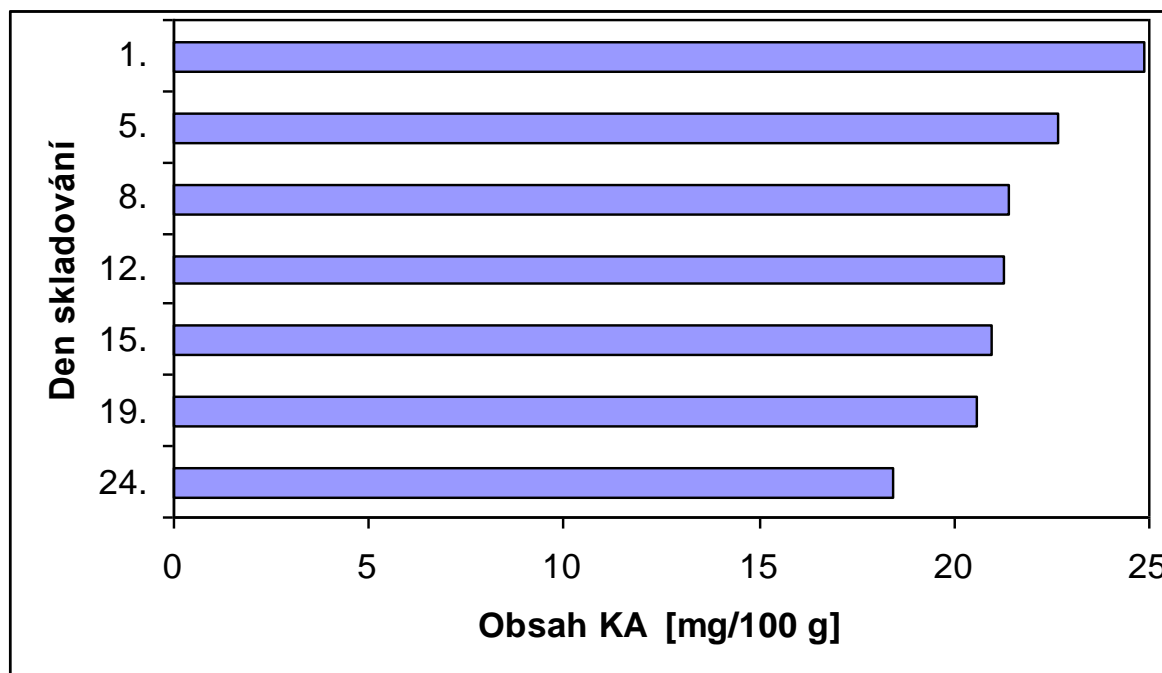
Literární zdroje [9], [38], [39] a [40] uvádí, že obsah kyseliny askorbové v jablku je v rozmezí 1,5 - 9 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. Námi provedenou analýzou bylo zjištěno, že ve šťávě z jablka Gloster 1. den měření byl průměrný obsah kyseliny askorbové 24,861 mg.100 g<sup>-1</sup>. Šťáva z jablka Gloster opět obsahuje větší množství kyseliny askorbové než jedlý podíl, vzhledem k tomu, že v něm jsou obsaženy i složky jako jsou sacharidy (polysacharidy – vláknina), které spoluvytváří texturu ovoce, a tím je snížen podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Mezi jednotlivými druhy jablek však existují velké rozdíly v obsahu kyseliny askorbové. Množství kyseliny askorbové závisí na odrůdě, klimatu, způsobu sklizně, skladování aj.

Tab. 17. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Gloster – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	6250,61	24,861	2,83	24,861 ± 3,330	0
5.	5370,26	22,647	2,43	22,647 ± 2,859	8,9
8.	5060,93	21,386	0,49	21,386 ± 0,577	14,0
12.	5012,98	21,260	0,06	21,260 ± 0,071	14,5
15.	4926,03	20,971	1,28	20,971 ± 1,506	15,6
19.	4851,80	20,595	0,92	20,595 ± 1,082	17,2
24.	4341,51	18,409	2,17	18,409 ± 2,553	26,0

Obsah kyseliny askorbové ve šťávě z jablka Gloster se po 5 dnech skladování snížil o 8,9 %. K nejvýraznějším ztrátám v průběhu skladování jablka Gloster došlo mezi 19. a 24. dnem skladování, byl zjištěn pokles o 8,8 %. Poslední měření obsahu kyseliny askorbové bylo provedeno po 24 dnech - průměrný obsah kyseliny askorbové 18,409 mg.100 g<sup>-1</sup>.

Po srovnání s naměřenou hodnotou v čerstvém vzorku bylo zjištěno, že ztráta kyseliny askorbové po 24 dnech skladování v lednici činí 26 %, vzhledem k tomu, že pro skladování jablek po delší dobu není lednice vhodným prostředím. Obr. 16 znázorňuje průměrný obsah kyseliny askorbové v jablku Gloster – šťávě v průběhu skladování.



Obr. 16. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Gloster – šťávě v průběhu skladování

### 6.2.10 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jablku Golden Delicious

Námi analyzované vzorky jablka Golden Delicious byly uskladněny 24 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové.

Naměřené hodnoty obsahu kyseliny askorbové v jablku Golden Delicious - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku jsou uvedeny v tabulce 18.

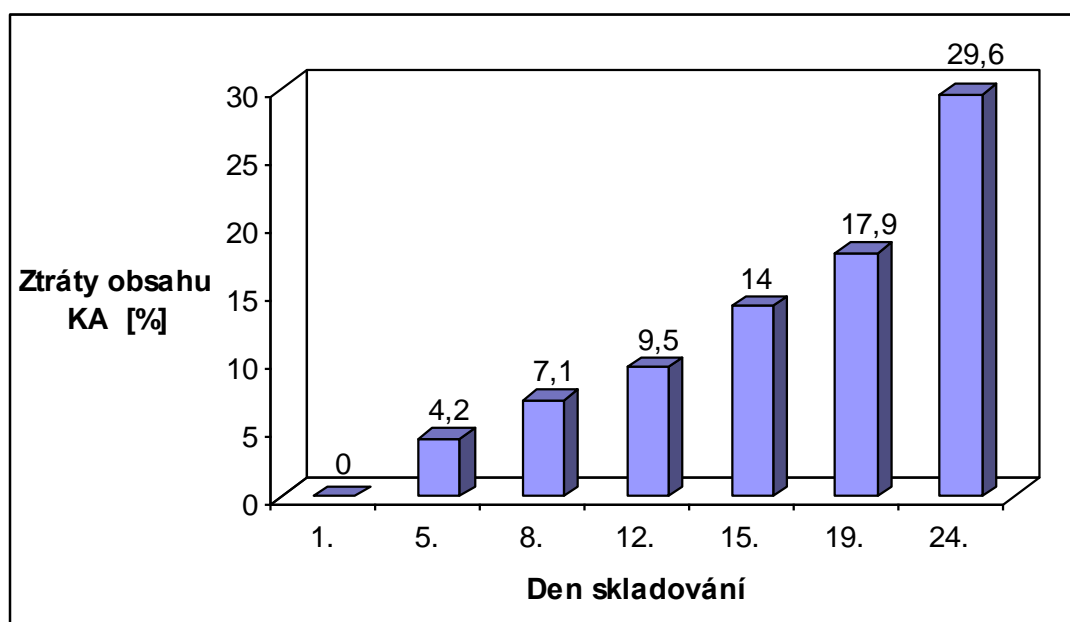
Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z jablka Golden Delicious a ve vzorku skladovaném 24 dní (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P XIV).

Obsah kyseliny askorbové v jablku dle literárních zdrojů [9], [38], [39] a [40] byl v rozmezí 1,5 - 9 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. První den našeho měření bylo zjištěno, že ve šťávě z jablka Golden Delicious byl průměrný obsah kyseliny askorbové 14,220 mg.100 g<sup>-1</sup>. Jedlý podíl obsahuje menší množství kyseliny askorbové než šťáva, protože obsahuje i složky jako jsou polysacharidy - vláknina, a tím je snížen podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Obsah kyseliny askorbové kolísá v závislosti na odrůdě, přírodních podmínkách, způsobu sklizně a některých dalších.

Z naměřených hodnot uvedených v tab. 18 vyplývá, že obsah kyseliny askorbové ve šťávě z jablka Golden Delicious se po 5 dnech skladování snížil minimálně (o 0,591 mg.100 g<sup>-1</sup>). Po 19. dnu skladování začalo docházet k výraznějším ztrátám a byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové na 82,1 % původního obsahu. Mezi 19. a 24. dnem skladování byl zjištěn další úbytek kyseliny askorbové, rozdíl v obsahu kyseliny askorbové dosáhl 11,7 %. Poslední měření bylo provedeno po 24 dnech skladování a celková ztráta kyseliny askorbové byla 29,6 % proti původnímu obsahu (obr. 17).

Tab. 18. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Golden Delicious – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	3356,58	14,220	1,02	14,220 ± 1,200	0
5.	3223,34	13,629	0,07	13,629 ± 0,082	4,2
8.	3142,95	13,209	0,49	13,209 ± 0,577	7,1
12.	3051,07	12,873	1,61	12,873 ± 1,894	9,5
15.	2936,42	12,230	0,26	12,230 ± 0,306	14,0
19.	2788,73	11,673	0,84	11,673 ± 0,988	17,9
24.	2375,54	10,012	1,18	10,012 ± 1,388	29,6



Obr. 17. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v jablku Golden Delicious – šťávě v průběhu skladování

Po srovnání obsahu kyseliny askorbové v čerstvém vzorku bylo zjištěno, že celková ztráta kyseliny askorbové po 24 dnech skladování v lednici činila 29,6 %, vzhledem k tomu, že lednice není ideálním prostředím pro skladování jablek po delší dobu.

### 6.2.11 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jablku Gala

Námi analyzované vzorky jablka Gala byly uskladněny 24 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové.

V tabulce 19 jsou uvedena zjištěná množství kyseliny askorbové v jablku Gala - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

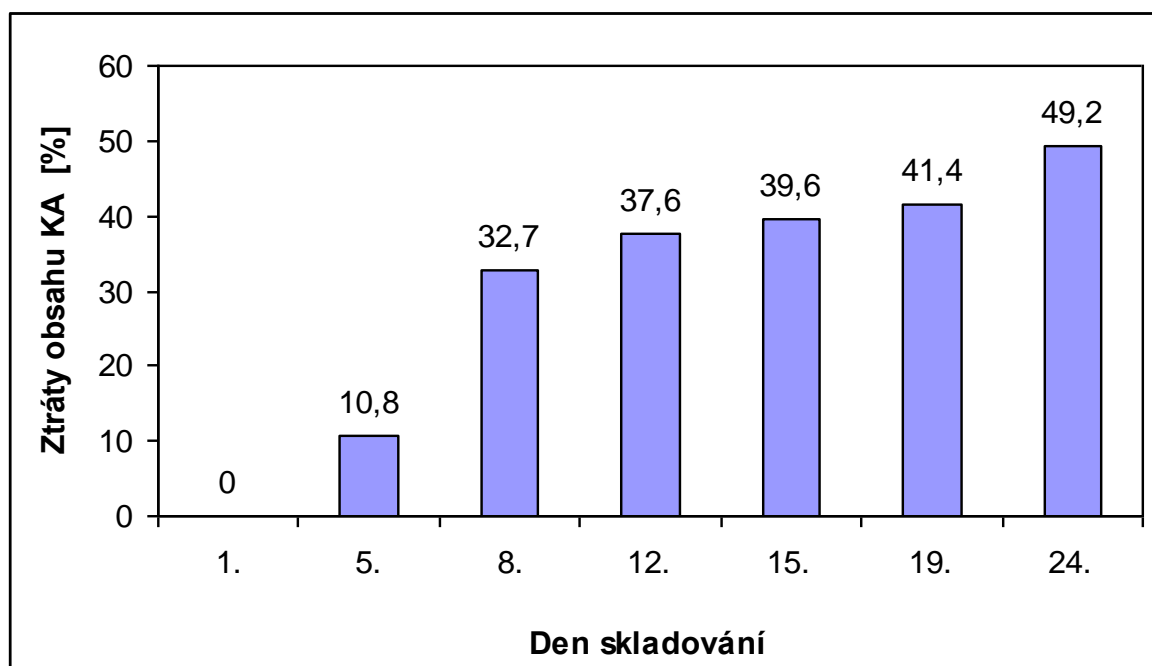
Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z jablka Gala a ve vzorku skladovaném 24 dní (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P XV).

Obsah kyseliny askorbové v jablku dle literárních zdrojů [9], [38], [39] a [40] byl v rozmezí 1,5 - 9 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. Naším měřením bylo zjištěno, že ve šťávě z jablka Gala 1. den měření (čerstvý vzorek) byl průměrný obsah kyseliny askorbové 16,134 mg.100 g<sup>-1</sup>. Ve šťáva z jablka Gala je obsaženo větší množství kyseliny askorbové než v jedlém podílu, vzhledem k tomu, že jedlý podíl obsahuje i složky jako jsou sacharidy (polysacharidy - vláknina), a tím je snížen podíl šťávy, který obsahuje kyselinu askorbovou. Množství kyseliny askorbové také kolísá v závislosti na původu rostliny, geografických podmínkách, době sklizně, skladovacích podmínkách (teplota, relativní vlhkost vzduchu) atd.

Tab. 19. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Gala - šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	3833,19	16,134	0,95	16,134 ± 1,118	0
5.	3406,54	14,391	0,24	14,391 ± 0,282	10,8
8.	2564,66	10,862	0,32	10,862 ± 0,377	32,7
12.	2392,48	10,072	2,14	10,072 ± 2,518	37,6
15.	2328,88	9,750	0,17	9,750 ± 0,200	39,6
19.	2248,30	9,449	0,25	9,449 ± 0,294	41,4
24.	1968,62	8,201	1,46	8,201 ± 1,718	49,2

Z tabulky 19 a z níže uvedeného grafu (obr. 18) vyplývá, že obsah kyseliny askorbové ve šťávě z jablka Gala už po týdnu skladování v lednici klesl na 2/3 původního obsahu. Pokles obsahu kyseliny askorbové pokračoval i v dalších dnech skladování, přičemž poslední den stanovení byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové téměř na polovinu původního obsahu. Po srovnání s naměřenou hodnotou v čerstvém vzorku bylo zjištěno, že ztráta kyseliny askorbové po 24 dnech skladování jablka Gala v lednici byla velmi výrazná - 49,2 %, vzhledem k tomu, že pro skladování jablek po delší dobu není lednice vhodným prostředím.



Obr. 18. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v jablku Gala – šťávě v průběhu skladování

Stanovení kyseliny askorbové bylo provedeno u tří komerčních druhů jablek – Gloster, Golden Delicious a Gala. Porovnáním výsledků stanovení bylo zjištěno, že nejvyšší obsah kyseliny askorbové byl stanoven v jablku Gloster ( $24,861 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), o 35,1 % méně v jablku Gala a o 42,8 % méně v jablku Golden Delicious. Po srovnání hodnot ztrát bylo zjištěno, že největší ztráty kyseliny askorbové po 24 dnech skladování byly v jablku Gala - 49,2 %, v jablku Golden Delicious byla ztráta kyseliny askorbové 29,6 % a v jablku Gloster došlo ke ztrátě 26 % z původního obsahu kyseliny askorbové.

### 6.2.12 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v kiwi

Námi analyzované vzorky kiwi byly uskladněny 15 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (15 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků kiwi.

V tabulce 20 jsou uvedena zjištěná množství kyseliny askorbové v kiwi - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové v kiwi - šťávě (1. a 15. den skladování) jsou uvedeny v příloze (P XVI).

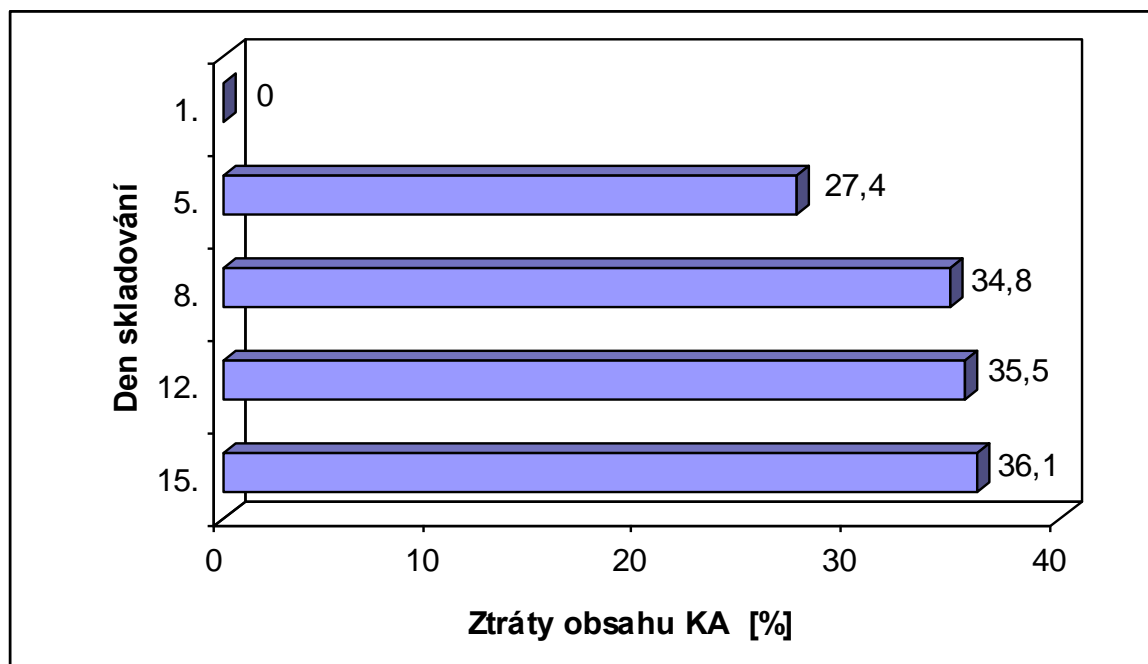
Tab. 20. Obsah kyseliny askorbové (KA) v kiwi – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	9902,88	41,825	1,12	41,825 ± 1,312	0
5.	8020,92	30,352	2,35	30,352 ± 2,765	27,4
8.	6405,38	27,287	1,41	27,287 ± 1,659	34,8
12.	6289,08	26,985	0,88	26,985 ± 1,035	35,5
15.	6247,31	26,736	3,23	26,736 ± 3,801	36,1

Literární zdroje [9], [38] a [40] uvádí obsah kyseliny askorbové v kiwi v rozmezí 67 – 127 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. Námi zjištěný průměrný obsah kyseliny askorbové ve šťávě z kiwi je 41,825 mg.100 g<sup>-1</sup>. Zjištěný obsah kyseliny askorbové ve šťávě z kiwi je nižší než v jedlém podílu a tyto hodnoty ani nespádají do rozmezí hodnot uváděných v literatuře. Příčinou nízkého obsahu kyseliny askorbové by mohly být nepříznivé klimatické podmínky v době pěstování, stupeň zralosti nebo také odrůda.

Z tab. 20 je zřejmé, že naměřené hodnoty obsahu kyseliny askorbové ve šťávě z kiwi se již po 5 dnech skladování výrazně snížily (o 27,4 %). Asi v polovině doby skladování (8. den) byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové na 65,2 % původního obsahu. V průběhu posledních 3 dnů skladování byly pozorovány jen nepatrné ztráty obsahu kyseliny askorbové. Po 15 dnech skladování vzorku kiwi byla ztráta obsahu kyseliny askorbové 36,1 %, což je znázorněno i na obr. 19.





Obr. 19. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v kiwi – šťávě v průběhu skladování

### 6.2.13 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v pomelu

Námi analyzované vzorky pomela byly uskladněny 24 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (24 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků pomela.

Zjištěná množství kyseliny askorbové v pomelu - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku jsou uvedena v tabulce 21.

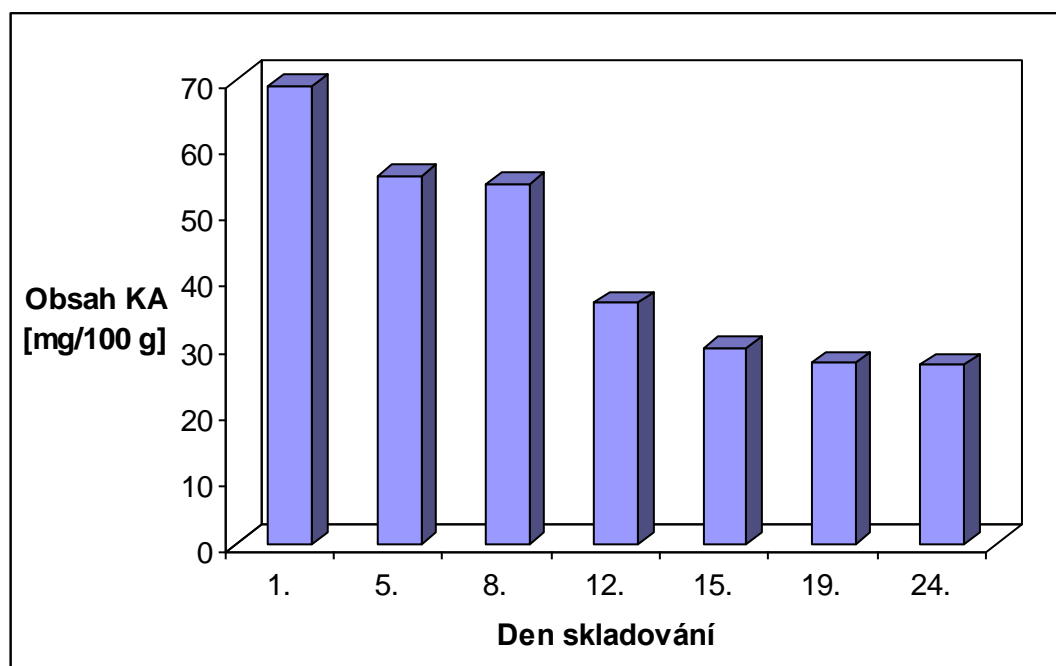
Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z pomela a ve vzorku skladovaném 24 dní jsou uvedeny v příloze (P XVII).

Obsah kyseliny askorbové v pomelu podle literárního zdroje [39] byl v rozmezí 36 - 61 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. První den našeho měření bylo zjištěno, že ve šťávě z pomela byl průměrný obsah kyseliny askorbové 69,027 mg.100 g<sup>-1</sup>. Šťáva z pomela obsahuje větší množství kyseliny askorbové než jedlý podíl, protože jedlý podíl, tedy dužnina obsahuje i složky jako jsou sacharidy (polysacharidy – vláknina), které spoluvytváří texturu ovoce, a tím je v jedlém podílu sníženo množství šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Obsah kyseliny askorbové také kolísá v závislosti na odrůdě, stupni zralosti, přírodních podmínkách, způsobu sklizně, dopravě aj.

Tab. 21. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomelu – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	16175,81	69,027	0,59	69,027 ± 0,694	0
5.	13079,07	55,613	2,14	55,613 ± 2,518	19,4
8.	12825,68	54,335	5,34	54,335 ± 6,283	21,3
12.	8585,87	36,324	1,78	36,324 ± 2,094	47,4
15.	6895,42	29,537	0,26	29,537 ± 0,306	57,2
19.	6418,03	27,267	1,29	27,267 ± 1,518	60,5
24.	6298,99	26,975	2,05	26,975 ± 2,412	60,9

Z výsledků měření (tab. 21) vyplývá, že obsah kyseliny askorbové ve šťávě z pomela se již po 5 dnech skladování výrazně snížil (o 19,4 %). Mezi 8. a 12. dnem skladování začalo docházet k velkým ztrátám kyseliny askorbové, byl zjištěn výrazný pokles kyseliny askorbové - o 26,1 %. V polovině doby skladování zůstalo ve vzorku pomela pouze 50 % kyseliny askorbové. Po 24 dnech skladování bylo provedeno poslední měření a bylo zjištěno, že ztráta obsahu kyseliny askorbové činila 60,9 %. Na obr. 20 je znázorněn průměrný obsah kyseliny askorbové v pomelu – šťávě v průběhu skladování.



Obr. 20. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomelu – šťávě v průběhu skladování

### 6.2.14 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v hrušce

Námi analyzované vzorky hrušky byly uskladněny 24 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové. Stanovení bylo po této době (24 dnů skladování) ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků hrušky.

V tabulce 22 jsou uvedena zjištěná množství kyseliny askorbové v hrušce – šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové z 1. dne stanovení vzorku z hrušky a ve vzorku skladovaném 24 dní (poslední den skladování) jsou uvedeny v příloze (P XVIII).

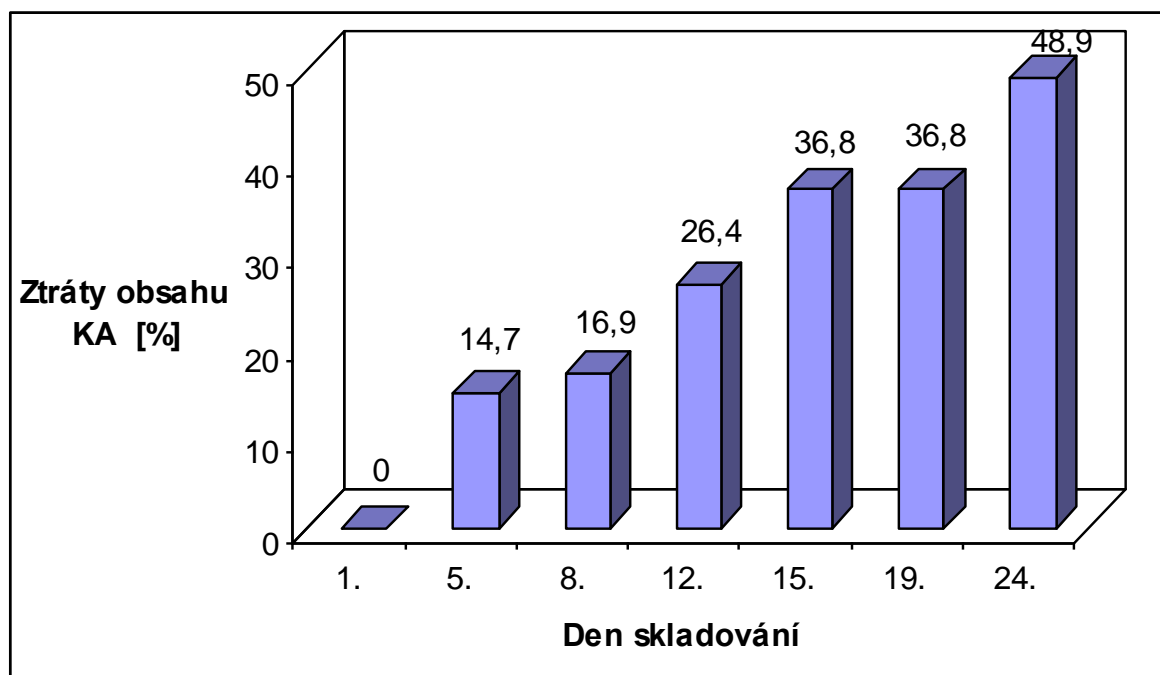
Obsah kyseliny askorbové v hrušce dle Veliška [9] byl v rozmezí 2 - 4 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu. V prvním dnu našeho měření (čerstvý vzorek) bylo zjištěno, že šťáva z hrušky průměrně obsahuje 8,798 mg.100 g<sup>-1</sup> kyseliny askorbové. Jedlý podíl obsahuje méně kyseliny askorbové než šťáva, vzhledem k tomu, že jedlý podíl obsahuje i složky jako jsou polysacharidy – vláknina, které spoluvytváří texturu ovoce, a tím se snižuje i podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Mezi jednotlivými druhy však existují velké rozdíly v obsahu kyseliny askorbové. Množství kyseliny askorbové závisí např. na odrůdě, stupni zralosti, podmínkách růstu a skladování.

Tab. 22. Obsah kyseliny askorbové (KA) v hrušce – šťávě

Den skladování	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Průměrný obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Ztráty KA [%]
1.	2113,89	8,798	0,91	8,798 ± 1,071	0
5.	1806,03	7,507	1,17	7,507 ± 1,377	14,7
8.	1746,45	7,308	0,62	7,308 ± 0,730	16,9
12.	1580,03	6,478	0,60	6,478 ± 0,706	26,4
15.	1351,89	5,562	0,41	5,562 ± 0,482	36,8
19.	1379,28	5,559	1,03	5,559 ± 1,212	36,8
24.	1115,12	4,493	1,18	4,493 ± 1,388	48,9

Z tab. 22 vyplývá, že obsah kyseliny askorbové ve šťávě z hrušky se po 5 dnech skladování snížil o 1,291 mg.100 g<sup>-1</sup>. Už po 15 dnech skladování byly ztráty 1/3 původního obsahu

kyseliny askorbové. Posledním měřením (24. den) byl zjištěn pokles obsahu kyseliny askorbové na polovinu původního obsahu, což je znázorněno i na obr. 21.



Obr. 21. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v hrušce – šťávě v průběhu skladování

### 6.2.15 Stanovení obsahu kyseliny askorbové v jahodách

Námi analyzované vzorky jahod byly uskladněny 10 dnů, v průběhu kterých byl opakovaně stanovován obsah kyseliny askorbové – 1 kus jahody byl analyzován v průběhu 2 dnů a v následujících 2 dnech byl stanoven obsah kyseliny askorbové v dalším kusu jahody. Po uplynutí doby 10 dnů bylo stanovení ukončeno vzhledem ke konci trvanlivosti vzorků jahod.

V tabulkách 23 a 24 jsou uvedena zjištěná množství kyseliny askorbové v jahodách - šťávě v čerstvém a ve skladovaném vzorku.

Chromatogramy stanovení kyseliny askorbové vzorku skladovaném 9 a 10 dní jsou uvedeny v příloze (P XIX).

Obsah kyseliny askorbové v jahodách dle literárních zdrojů je v rozmezí 40 - 89 mg.100 g<sup>-1</sup> v jedlém podílu [9], [38], [39], [40]. Naším měřením bylo zjištěno, že ve šťávě z jahody 1. den měření (čerstvý vzorek) byl průměrný obsah kyseliny askorbové 104,614 mg.100 g<sup>-1</sup>. Šťáva z jahod obsahuje větší množství kyseliny askorbové než jedlý podíl, vzhledem

k tomu, že jedlý podíl, tedy dužnina obsahuje i složky jako jsou sacharidy (polysacharidy – vláknina), které spoluvytváří texturu ovoce, a tím je snížen podíl šťávy obsahující kyselinu askorbovou. Množství kyseliny askorbové kolísá i v závislosti na odrůdě, klimatu, způsobu sklizně a skladování jahod.

Tab. 23. Obsah kyseliny askorbové (KA) ve šťávě z jahod

Den skladování	Den stanovení	Průměrná plocha píku [mAU.s]	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	s
1.	1	26656,7	104,614	1,38
2.	2	16905,18	72,438	1,14
3.	1	21664,58	92,544	2,77
4.	2	16466,93	67,599	0,51
5.	1	19429,42	82,725	0,42
6.	2	12904,93	54,732	2,45
7.	1	16266,46	70,068	1,68
8.	2	11590,28	50,444	0,14
9.	1	17052,16	72,708	1,08
10.	2	6421,33	27,057	0,93

Mezi 1. a 2. dnem stanovení byla ztráta kyseliny askorbové kolem 30 %. K největším ztrátám mezi 1. a 2. dnem stanovení došlo v posledním stanovení, kdy byla zjištěna až dvojnásobná ztráta kyseliny askorbové.

Tab. 24. Ztráty kyseliny askorbové (KA) v jahodách – šťávě v průběhu skladování

Den skladování	Obsah KA [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Den stanovení	Ztráty KA- vzhledem k 1. dnu sklado- vání [%]	Ztráty KA v 2. dnu stanovení [%]
1.	104,614 ± 1,624	1	0	0
2.	72,438 ± 1,341	2	30,8	30,8
3.	92,544 ± 3,259	1	11,5	0
4.	67,599 ± 0,601	2	35,4	27,0
5.	82,725 ± 0,294	1	20,9	0
6.	54,732 ± 2,883	2	47,7	33,8
7.	70,068 ± 1,977	1	33,0	0
8.	50,444 ± 0,165	2	51,8	28,0
9.	72,708 ± 1,271	1	30,5	0
10.	27,057 ± 1,094	2	74,1	62,8

Z důvodu rychlého kažení jahod bylo velmi problematické zjistit, jak velká je ztráta kyseliny askorbové během skladování u jednoho kusu v průběhu 10 dnů. Postupnou ztrátu kyseliny askorbové u jahod tedy nelze přesně určit jako u předchozích vzorků, protože na každé 2 dny analýzy musel být použit 1 ks jahod. Všeobecně se dá konstatovat, že ke ztrátám kyseliny askorbové dochází v průběhu skladování a jsou v rozsahu 11,5 – 74,1 %.

## ZÁVĚR

Vitamin C patří mezi vitaminy rozpustné ve vodě. Vitamin C plní v našem těle řadu důležitých funkcí. Je antioxidantem, účastní se biosyntézy kolagenu, mukopolysacharidů, prostaglandinů a také podporuje imunitní systém. Vitamin C (kyselina askorbová) patří k nejméně stabilním vitaminům. Díky vysoké rozpustnosti kyseliny askorbové dochází k největším ztrátám výluhem, vařením a konzervováním ovoce a zeleniny. K značnému úbytku dochází rovněž skladováním.

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu kyseliny askorbové (vitaminu C) ve vybraném ovoci v průběhu skladování chromatografickou metodou HPLC/UV.

Provedením analýzy 13 druhů vybraného ovoce (citron, pomeranč, mandarinka, kiwi, jablko Gloster, Golden Delicious a Gala, grep bílý a červený, limeta, pomelo, hruška, jahody) byly zjištěny ztráty kyseliny askorbové v průběhu skladování.

Vzorky byly extrahovány se směsí mobilní fáze. Obsah kyseliny askorbové ve vzorcích ovoce byl stanoven za těchto podmínek: mobilní fáze - směs  $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} : \text{H}_3\text{PO}_4$  (99 : 0,5 : 0,5), průtok mobilní fáze 0,8 ml/min, kyselina askorbová byla detekována v 2,13 – 2,42 min. Separace probíhala na koloně SUPELCOSIL - LC8 a detekce kyseliny askorbové byla prováděna pomocí UV detektoru při vlnové délce 254 nm.

Dle této techniky byl zjištěn obsah kyseliny askorbové ve vzorcích čerstvého ovoce – šťávě v sestupném pořadí: pomeranč (171,206 mg.100 g<sup>-1</sup>), grep bílý (134,891 mg.100 g<sup>-1</sup>), grep červený (126,591 mg.100 g<sup>-1</sup>), jahody (104,614 mg.100 g<sup>-1</sup>), limeta (99,364 mg.100 g<sup>-1</sup>), citron (96,433 mg.100 g<sup>-1</sup>), mandarinka (93,755 mg.100 g<sup>-1</sup>), pomelo (69,027 mg.100 g<sup>-1</sup>), kiwi (41,825 mg.100 g<sup>-1</sup>), jablko Gloster (24,861 mg.100 g<sup>-1</sup>), jablko Gala (16,134 mg.100 g<sup>-1</sup>), jablko Golden Delicious (14,220 mg.100 g<sup>-1</sup>) a nejnižší obsah kyseliny askorbové byl stanoven v hrušce (8,798 mg.100 g<sup>-1</sup>).

Největší ztráty kyseliny askorbové v průběhu skladování byly zjištěny u pomeranče - po 37 dnech skladování byla ztráta 63,6 % a u pomela, kdy po 24 dnech skladování činí ztráta 60,9 %. Poměrně vysoká ztráta kyseliny askorbové byla zjištěna v grepu červeném (52 % z původního obsahu kyseliny askorbové) a v grepu bílém (45,5 % z původního obsahu kyseliny askorbové) po 28 dnech skladování. U kiwi byla ztráta kyseliny askorbové 36,1 % (15 dnů skladování), u mandarinky 23,3 % (19 dnů skladování) a u citronu 22,4 % (28 dnů skladování). Při porovnání hodnot ztrát bylo zjištěno, že nejnižší pokles obsahu kyseliny

askorbové byl u limety (19,4 %), jablka Gloster (26 %) a Golden Delicious (29,6 %) vždy po 24 dnech skladování.

Z důvodu rychlého kažení jahod bylo velmi problematické zjistit, jak velká je ztráta kyseliny askorbové během skladování u jednoho kusu v průběhu 10 dnů. Všeobecně lze konstatovat, že ke ztrátám kyseliny askorbové u jahod dochází v průběhu skladování (1 – 10 dnů) a jsou v rozsahu 11,5 – 74,1 %.

Porovnáním výsledků analýzy provedené v citronové šťávě uskladněné v lednici jak v otevřené nádobě, tak i v uzavřené nádobě bylo zjištěno, že ztráty kyseliny askorbové po 5 dnech skladování citronové šťávy v otevřené nádobě i uzavřené nádobě jsou přibližně stejné. Při porovnání naměřených hodnot u pomerančové šťávy bylo zjištěno, že v pomerančové šťávě uskladněné v lednici v uzavřené nádobě je ztráta obsahu kyseliny askorbové po 7 dnech skladování 19,8 %, v otevřené nádobě činí 2,4 % po 4 dnech skladování.



**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] HLÚBIK, P., OPLTOVÁ, L. *Vitaminy*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. 232 s. ISBN 80-247-0373-4.
- [2] BABINSKÁ, K., BEDEROVÁ, A., GRANČICOVÁ, E. *Sérové hladiny vitamínov A, C, E u obyvatel'ov Slovenska*. Bratislava: Lekárske Listy, 1995, roč. 96, č. 8. s. 430-434.
- [3] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II*. 1. vyd. Zlín: UTB ve Zlíně, 2007. 102 s. ISBN 80-7318-395-1.
- [4] ŘEZÁČOVÁ, M., STOKLASOVÁ, A. *Základy biochemie lidského organismu*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2008. 123 s. ISBN 978-80-246-1510-3.
- [5] SCHREIBER, V. *Vitaminy kdy – jak- proč- kolik*. 1. vyd. Praha: H & H, 1993. 112 s. ISBN 80-85787-17-2.
- [6] ŠÍCHO, V., VODRÁŽKA, Z., KRÁLOVÁ, B. *Potravinářská biochemie*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1981. 360 s. ISBN 04-815-81.
- [7] VÁVROVÁ, J. *Vitaminy a stopové prvky*. 1. vyd. Praha: Česká společnost klinické biochemie, 2007. 153 s. ISBN 978-80-254-1171-1.
- [8] HAMPL, F., PALEČEK, J. *Farmakochemie*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002. s. 371. ISBN 80-7080-495-5.
- [9] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 328 s. ISBN 80-902391-4-5.
- [10] FRAŇKOVÁ, S. *Výživa a psychické zdraví*. 1. vyd. Praha: Česká ISV, 1996. 271 s. ISBN 80-85866-13-1.
- [11] MADŽUKOVÁ, J. *Léčivá síla vitamínů, minerálů a dalších látek*. 1. vyd. Benešov: Start, 2005. 268 s. ISBN 978-80-86231-36-5.
- [12] FAO/WHO expert. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. 2. vyd. Bankok: FAO, 1998. 340 s. ISBN 92-4-154612-3.
- [13] HALLIWELL, B. Vitamin C and genomic stability. *Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2001, roč. 475, č. 1 - 2. s. 29 -35.

- [14] ROGER, J.W., PAULING, L. Vitamin C and Collagen [online]. [cit. 2012-01-24]. Dostupný z WWW: <http://www.eternalwellness.com/pdf/Collagen%20and%20Vitamin%20C%20IV.pdf>.
- [15] NAIDU, A.K. Vitamin C in human health and disease is still mystery. *Nutrition journal*. 2003, roč. 2, č. 7.
- [16] KOOLMAN, J. *Color Atlas of Biochemistry*. 2. vyd. Stuttgart: Thieme, 1996. 478 s. ISBN 3-13-100371-5.
- [17] MINDEL, E., MUNDISOVÁ, H. *Nová vitaminová bible*. 3. vyd. Praha: Euromedia group, 2010. 576 s. ISBN 978-80-249-1419-0.
- [18] TUREK, B. Vitaminy a jiné ochranné látky. *Výživa a potraviny*. 2007, roč. 62, č. 5. s. 114 – 115. ISSN 1211-846X.
- [19] HENRY, C., CHAPMAN, C. *Nutrition Handbook for Food Processors*. Woodhead Publishing, 2002. 416 s. ISBN 1-59124-430-7.
- [20] Chemické reakce askorbové kyseliny [online]. [cit. 2012-01-24]. Dostupný z WWW: <http://www.ped.muni.cz/WCHEM/comenius2000/vitaminC/reakce.htm>.
- [21] NEFIC, H. Anticlastogenic effect of vitamin C on cisplatin induced chromosome aberrations in human lymphocyte cultures. *Mutation Research / Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2001, roč. 498, č. 1 - 2. s. 89 - 98.
- [22] BENDICH, A., MACHLIN, L.J., SCANDURRA, O. The antioxidant role of vitamin C. *Advances in Free Radical Biology & Medicine*. 1986, roč. 2, č. 2. s. 419 - 444.
- [23] CARR, A.C., BEN-ZHAN, Z., FREI, B. Potential antiatherogenic mechanism of ascorbate (vitamin C) and  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E). *Circulation research*. 2000, roč. 87. s. 349.
- [24] CARR, A.C., FREI, B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in human. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1999, roč. 69, č. 6. s. 1086 – 1107.
- [25] TURLEY, S.D., WEST, C.E., HORTON, B.J. The role of ascorbic acid in the regulation of cholesterol metabolism and in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1976, roč. 24, č. 1 - 2. s. 1 - 18.

- [26] STROHLE, A., HAHN, A. Vitamin C and immune function. *Med Monatsschr Pharm.* 2009, roč. 32, č. 2. s. 49 -54.
- [27] STEINMETZ, K.A., POTTER, J.D. Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanismus. *Cancer cause and control.* 1991, roč. 2, č. 6. s. 427 – 442.
- [28] CORREA, P. Human Gastric Carcinogenesis: A Multistep and Multifactorial Process – First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer research.* 1992, roč. 52. s. 6735 – 6740.
- [29] SCHORAH, C.J., SOBALA, G.M., SANDERSON, M., COLLIS, N., PRIMROSE, J.N. Gastric juice ascorbic acid: effects of disease and implications for gastric carcinogenesis. *The American journal of clinical nutrition.* 1991, roč. 53, č. 1. s. 287 - 293.
- [30] MOSURE, J. Vitamin C (Ascorbic Acid). *Human nutrition.* 2004, roč. 552, č. 5. s. 2.
- [31] NOVÁK, V., BUŇKA, F. *Základy ekonomiky výživy.* 1. vyd. Zlín: UTB, 2005. 200 s. ISBN 80-7318-262-9.
- [32] PÁNEK, J., POKORNÝ, J., DOSTÁLOVÁ, J., KOHOUT. *Základy výživy.* 1. vyd. Praha: Svoboda servis, 2002. 205 s. ISBN 80-86320-23-5.
- [33] STRAUB, F.B. *Biochemie.* 1. vyd. Praha: Československá akademie věd, 1962. 635 s. ISBN 21-360-62.
- [34] SCHENCKE, C., SALVO, J., VEUTHEY, C. Healing of Burns Type AB-B in Guinea Pig (*Cavia Porcellus*) Using Ulmo Honey Associated with Oral Vitamin C. *International Journal of Morphology.* 2011, roč. 29, č. 1. s. 69 – 75.
- [35] JANÍČEK, G., HALAČKA, K. *Základy výživy.* 1. vyd. Praha: SNTL, 1985. 174 s. ISBN 05-003-85.
- [36] RUMSEY, S.C., LEVINE, M. Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 1998, roč. 9, č. 3. s. 116 – 130.
- [37] FENNEMA, O. R., OWEN, R. *Food chemistry.* 3. vyd. New York: Marcel Dekker, 1996. 1069 s. ISBN 0-8247-9691-8.
- [38] Množství vitamínu C v zelenině a ovoci (mg/100 g). Výzkumný ústav potravinářský. Bratislava, 1997. [online]. [cit. 2012-01-28]. Dostupný z WWW: <http://www.u.slavika.cz/nabizime/VITC.doc>.

- [39] FRANKE, A.A., CUSTER, L.J., ARAKAKI, CH. Vitamin C and flavonoid levels of fruit and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2004, roč. 17, č. 1. s. 1-35.
- [40] Food highest in Vitamin C in fruits and Fruit Juices. [online]. [cit. 2012-4-6]. Dostupné z WWW: [www.nutritiondata.self.com/foods-009101-w.html?maxCount=122](http://www.nutritiondata.self.com/foods-009101-w.html?maxCount=122).
- [41] AKINYELE, I.O., KESHINRO, O.O. Tropical fruits as sources of vitamin C. *Food Chemistry*. 1980, roč. 5, č. 2. s. 163-167.
- [42] NOVÁKOVÁ, L., SOLICH, P., SOLICHOVÁ, D. HPLC methods for simultaneous of ascorbic nad dehydroascorbic acids. *Trends in analytical chemistry*. 2008, roč. 27, č. 10. s. 942 - 958.
- [43] FRENICH, A.G., TORRES, M.E.H., VEGA, A.B., VIDAL, J.L.M., BOLANOS, P. Determination of Ascorbic Acid and Carotenoids in Food Commodities by Liquid Chromatography with Mass Spectrometry Detection. *Journal of agricultural and Food Chemistry*. 2005, roč. 53, č. 19. s. 7371-7376.
- [44] NOVÁK, V. *Ekonomika výživy - II. díl*. 1. vyd. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 1997. 60 s.
- [45] Skladování ovoce a zeleniny. [online]. [cit. 2012-3-16]. Dostupné z WWW: [www.vscht.cz/ktk/www\\_324/studium/KS/4.pps](http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/KS/4.pps).
- [46] VALÁŠEK, P., ROP, O. *Analýza potravin – přírodní látky – doplňkové texty k základnímu kurzu*. 1. vyd. Zlín: UTB, 2007. 152 s. ISBN 978-80-7318-585-5.
- [47] ZÁDĚROVÁ, L., LUBAL, P. Kinetické stanovení kyseliny L-askorbové s využitím oscilujícího chemického systému. *Chemické listy*. 2006, roč. 100. s. 277-281.
- [48] Metody stanovení ve vodě rozpustných vitaminů. [online]. [cit. 2012-2-22]. Dostupné z WWW: [http://hplc1.sweb.cz/Vitamin/methods\\_water.htm](http://hplc1.sweb.cz/Vitamin/methods_water.htm).
- [49] KALL, M. ANDERSON, C. Improved method for simultaneous determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid, isoascorbic acid and dehydroisoascorbic acid in food and biological samples. *Journal of Chromatography B*. 1999, roč. 730. s. 101-111.
- [50] ARYA, S.P., MAHAJAN, M., JAIN, P. Non-spectrophotometric methods for the determination of Vitamin C. *Analytica Chimica Acta*. 2000, roč. 417, č. 1. s. 1-14.

- [51] KNOBLOCH, E. Fysikálně chemické metody stanovení vitaminů. 1. vyd. Praha: Československá akademie věd, 1956. 458 s.
- [52] KUBÁŇ, V., KUBÁŇ, P. *Analyza potravin*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2007. 203 s. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [53] ENSAFI, A., REZAEI, B., MOVAHEDINIA, H. Kinetic-spectrophotometric determination of ascorbic acid by inhibition of the hydrochloric acid-bormate reaction. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2002, roč. 58, č. 12. s. 2589-2594.
- [54] BURINI, G. Development of a quantitative method for the analysis of total L-ascorbic acid in foods by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2007, roč. 1154, č. 1-2. s. 97-102.
- [55] YEBRA-BIURRUN, M.C. Flow injection determination methods of ascorbic acid. *Talanta*. 2000, roč. 52. s. 367–383.
- [56] WANG, L., ZHANG, L., SHE, S., GAO, F. Direct fluorimetric determination of ascorbic acid by the supramolecular system of AA with  $\beta$ -cyclodextrin derivate. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2005, roč. 61, č. 11-12. s. 2737-2740.
- [57] HERNANDEZ, Y. Determination of vitamin C in tropical fruit. *Food Chemistry*. 2006, roč. 96, č. 4. s. 654-662.
- [58] SHEKHOVTSOVA, T.N., MUGINOVA, S.V., LUCHININA, J.A., GALIMOVA, A.Z. Enzymatic methods in food analyses: determination of ascorbic acid. *Analytica Chimica Acta*. 2005, roč. 573-574. s. 125-132.
- [59] ŠTULÍK, K. a kolektiv. *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum – Univerzita Karlova, 2005. 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [60] SNYDER, L., GLAJCH, J., KIRLAND, J. *Practical HPLC Method Development*. 2. vyd. Canada: JOHN WILEY & SONS, 1997. 765 s. ISBN 0-471-00703-X.
- [61] CHURÁČEK, J. a kolektiv. *Analytická separace látek*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1990. 384 s. ISBN 80-03-00569-8.
- [62] Vysokoúčinná kapalinová chromatografie. [online]. [cit. 2012-3-6]. Dostupné z WWW: <http://ciselniky.data.mzcr.cz/hypertext/200540/hypertext/BOAJALB.htm>.

- [63] PACÁKOVÁ, K., ŠTULÍK, K. *Vysokoučinná kapalinová chromatografie*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986. 144 s.
- [64] Chromatografické metody. [online]. [cit. 2012-3-4]. Dostupné z WWW: <[http://www.vscht.cz/ktk/www\\_324/lab/ana/chm.html](http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/ana/chm.html)>.
- [65] CVAČKA, J. Instrumentace pro vysokoučinnou kapalinovou chromatografii. [online]. [cit. 2012-3-6]. Dostupné z WWW: <<http://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc2.pdf>>.
- [66] DOUŠA, M. *Základy separačních metod se zaměřením na HPLC*. 1. vyd. Brno: ÚKZÚZ, 2002. 129 s. ISBN 80-86548-09-0.
- [67] MIKEŠ, O. a kolektiv. *Laboratorní chromatografické metody*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1980. 676 s. ISBN 04-614-80.
- [68] DOUŠA, M. HPLC. [online]. [cit. 2012-3-6]. Dostupné z WWW: <<http://www.hplc.cz>>.
- [69] CHURÁČEK, J., JANDERA, P. *Úvod do vysokoučinné kapalinové kolonové chromatografie*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1984. 188 s. ISBN 04-607-85.
- [70] PLANCHOM, V., LATEUR, M., DUPONT, P., LOGNAY, G. Ascorbic acid level of Belgian apple genetic rasources. *Science Horticulturae*. 2004, roč. 100, č. 1-4. s. 51-61.
- [71] QUIROS, A.R.B, FERNÁNDEZ-ARIAS, M., LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J. Ascreeningmethod for the determination of ascorbic acid in fruitjuices and softdrinks. *Food Chemistry*. 2009, roč. 116, č. 2. s. 509-512.
- [72] ODRIOZOLA-SERRANA, I., HERNÁNDEZ-JOVER, T., MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chemistry*. 2007, roč. 105, č. 3. s. 1151-1158.
- [73] FONTANNAZ P., KILINC T., HEUDI O. HPLC-UV determination of total vitamin C in a wide range of fortified food products. *Food Chemistry*. 2006, roč. 94, č. 4, s. 626-631.
- [74] HERNÁNDEZ, Y., GLORIA, M., GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical: comparative evaluation of methods. [online]. [cit. 2012-4-6]. Dostupné z WWW: <[www.icia.es/icia/download/postcosecha/vitamina%20c.pdf](http://www.icia.es/icia/download/postcosecha/vitamina%20c.pdf)>.

- [75] GUNDOGDU, M., MURADOGLU, F., SENSOY R.I.G., YILMANZ, H. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Scientia Horticulturae*. 2011, roč. 132. s. 37-41.
- [76] IWASE H., ONO I. Determination of ascorbic acid in food by column liquid chromatography with eletrochemical detection using eluent for prerun sample stabilization. *Journal of Chromatography A*. 1998, roč. 806, č. 2, s. 361-364.
- [77] IWASE H. Use of an amino acid in the mobile phase for determination of ascorbic acid in food by high-performance liquid chromatography with eletrochemical detection. *Journal of Chromatography A*. 2000, roč. 881, č. 1-2, s. 317-326.
- [78] SANCHO, L.E.G., YAHIA, E.M., GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. Identifikation and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*. 2011, roč. 44, č. 5. s. 1284-1291.
- [79] SILVA, F.O. Total ascorbic acid determination in fresh squeezed orange juice by gaschromatography. *Food Control*. 2005, roč. 16, č. 1. s. 55-58.
- [80] ZEMANOVÁ, B. *Ovoce – výukový text*. Bakalářská práce. Brno: MU, 2011. 188 s. 105.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

LDL	Low-density lipoprotein – lipoprotein o nízké hustotě.
HDL	High-density lipoprotein – lipoprotein o vysoké hustotě.
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate – nikotinamid adenin dinukleotid fosfát.
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid – kyselina ethylendiamintetraoctová.
FAO	Food and Agriculture Organization - organizace pro výživu a zemědělství.
HPLC	High performance liquid chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie.
UV/VIS	Ultraviolet-Visible – ultrafialová a viditelná oblast světla.
UHT	Ultra high temperature – za vysoké teploty.
KA	Kyselina askorbová.



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. Kyselina askorbová.....	14
Obr. 2. Oxidačně-redukční systém vitamínu C.....	14
Obr. 3. Schéma postupné oxidace L-askorbové kyseliny.....	23
Obr. 4. Schéma kapalinového chromatografu.....	34
Obr. 5. Kalibrační křivka kyseliny askorbové.....	49
Obr. 6. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v citronu – šťávě v průběhu skladování.....	51
Obr. 7. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě (skladované v uzavřené nádobě) v průběhu skladování.....	53
Obr. 8. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě (skladované v otevřené nádobě v průběhu) skladování.....	54
Obr. 9. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v pomeranči – šťávě v průběhu skladování.....	57
Obr. 10. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě (skladované v uzavřené nádobě) v průběhu skladování.....	58
Obr. 11. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě (skladované v otevřené nádobě) v průběhu skladování.....	59
Obr. 12. Obsah kyseliny askorbové (KA) v mandarince – šťávě v průběhu skladování.....	61
Obr. 13. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v limetě – šťávě v průběhu skladování.....	63
Obr. 14. Obsah kyseliny askorbové (KA) v bílém grepu – šťávě v průběhu skladování.....	64
Obr. 15. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v červeném grepu – šťávě v průběhu skladování.....	66
Obr. 16. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Gloster – šťávě v průběhu skladování.....	68

---

Obr. 17. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v jablku Golden Delicious – šťávě v průběhu skladování.....	69
Obr. 18. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v jablku Gala – šťávě v průběhu skladování.....	71
Obr. 19. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v kiwi – šťávě v průběhu skladování.....	73
Obr. 20. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomelu – šťávě v průběhu skladování.....	74
Obr. 21. Ztráty obsahu kyseliny askorbové (KA) v hrušce – šťávě v průběhu skladování.....	76

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1. Obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce dle Výzkumného ústavu potravinářského Bratislava.....	21
Tab. 2. Obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce dle Velíška.....	21
Tab. 3. Obsah vitamínu C ve vybraných druzích ovoce dle zahraničních zdrojů.....	22
Tab. 4. Doporučené teploty pro skladování ovoce.....	27
Tab. 5. Ztráty vitamínu C v % při přípravě nápojů v závislosti na době jejich spotřebování.....	28
Tab. 6. Průměrné plochy píků standardu kyseliny askorbové.....	49
Tab. 7. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronu – šťávě.....	51
Tab. 8. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě skladované v uzavřené nádobě.....	53
Tab. 9. Obsah kyseliny askorbové (KA) v citronové šťávě skladované v otevřené nádobě.....	54
Tab. 10. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomeranči – šťávě.....	56
Tab. 11. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě skladované v uzavřené nádobě.....	58
Tab. 12. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomerančové šťávě skladované v otevřené nádobě.....	59
Tab. 13. Obsah kyseliny askorbové (KA) v mandarince – šťávě.....	60
Tab. 14. Obsah kyseliny askorbové (KA) v limetě – šťávě.....	62
Tab. 15. Obsah kyseliny askorbové (KA) v bílém grepu – šťávě.....	64
Tab. 16. Obsah kyseliny askorbové (KA) v červeném grepu – šťávě.....	65
Tab. 17. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Gloster – šťávě.....	67
Tab. 18. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Golden Delicious – šťávě.....	69
Tab. 19. Obsah kyseliny askorbové (KA) v jablku Gala – šťávě.....	70
Tab. 20. Obsah kyseliny askorbové (KA) v kiwi – šťávě.....	72

---

Tab. 21. Obsah kyseliny askorbové (KA) v pomelu – šťávě.....	74
Tab. 22. Obsah kyseliny askorbové (KA) v hrušce – šťávě.....	75
Tab. 23. Obsah kyseliny askorbové (KA) ve šťávě z jahod.....	77
Tab. 24. Ztráty kyseliny askorbové (KA) v jahodách – šťávě v průběhu skladování.....	78

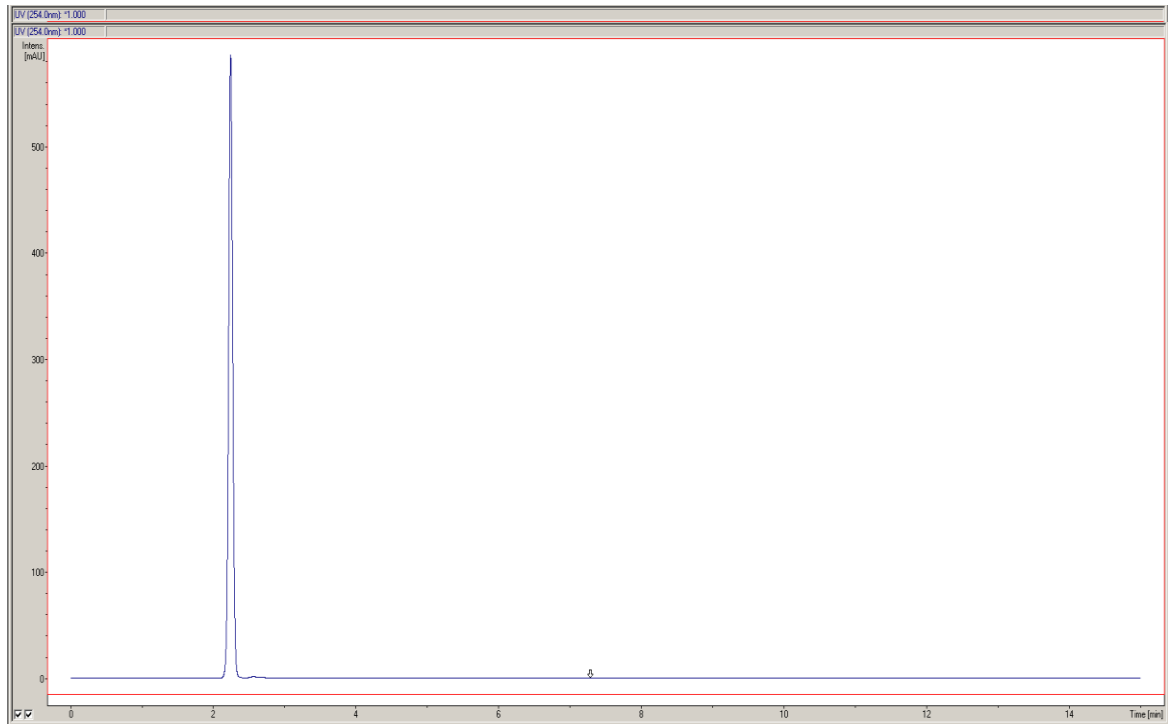
**SEZNAM PŘÍLOH**

- P I Chromatogram standardu kyseliny askorbové (3  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  a 4  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )
- P II Chromatogram standardu kyseliny askorbové (5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  a 6  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )
- P III Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v citronu - šťávě (1. a 28. den skladování)
- P IV Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v citronové šťávě (1. a 14. den skladování v uzavřené nádobě)
- P V Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v citronové šťávě (1. a 5. den skladování v otevřené nádobě)
- P VI Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v pomeranči - šťávě (1. a 37. den skladování)
- P VII Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v pomerančové šťávě (1. a 7. den skladování v uzavřené nádobě)
- P VIII Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v pomerančové šťávě (1. a 4. den skladování v otevřené nádobě)
- P IX Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v mandarince - šťávě (1. a 19. den skladování)
- P X Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v limetě - šťávě (1. a 24. den skladování)
- P XI Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v bílém grepu - šťávě (1. a 28. den skladování)
- P XII Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v červeném grepu - šťávě (1. a 28. den skladování)
- P XIII Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v jablku Gloster - šťávě (1. a 24. den skladování)
- P XIV Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v jablku Golden Delicious - šťávě (1. a 24. den skladování)

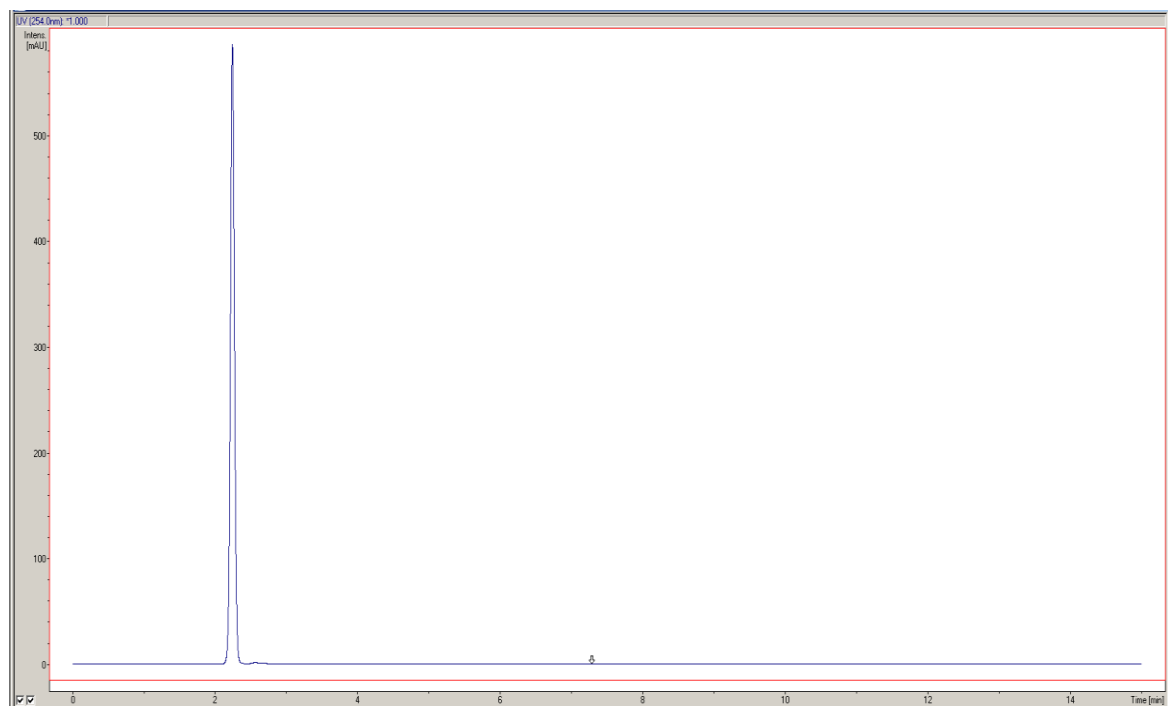
- P XV Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v jablku Gala - šťávě (1. a 24. den skladování)
- P XVI Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v kiwi - šťávě (1. a 15. den skladování)
- P XVII Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v pomelu - šťávě (1. a 24. den skladování)
- P XVIII Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v hrušce - šťávě (1. a 24. den skladování)
- P XIX Chromatogram stanovení kyseliny askorbové v jahodě - šťávě (9. a 10. den skladování)

# PŘÍLOHA P I: CHROMATOGRAM STANDARDU KYSELINY ASKORBOVÉ

**3  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$**

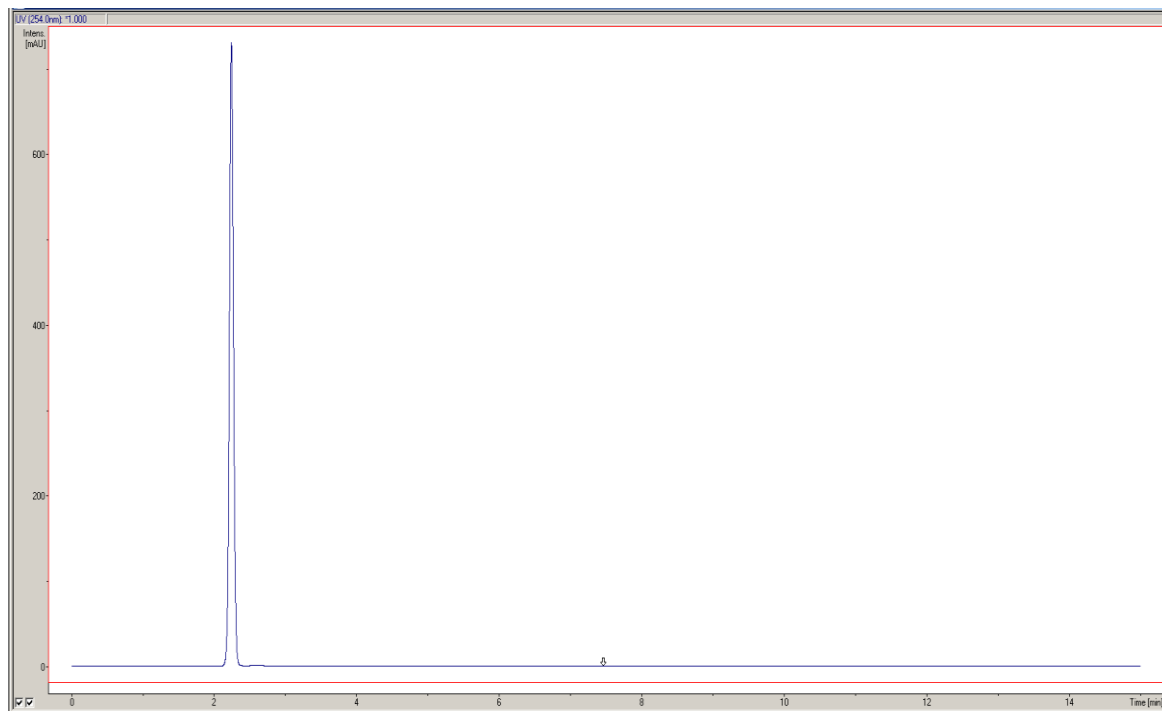


**4  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$**

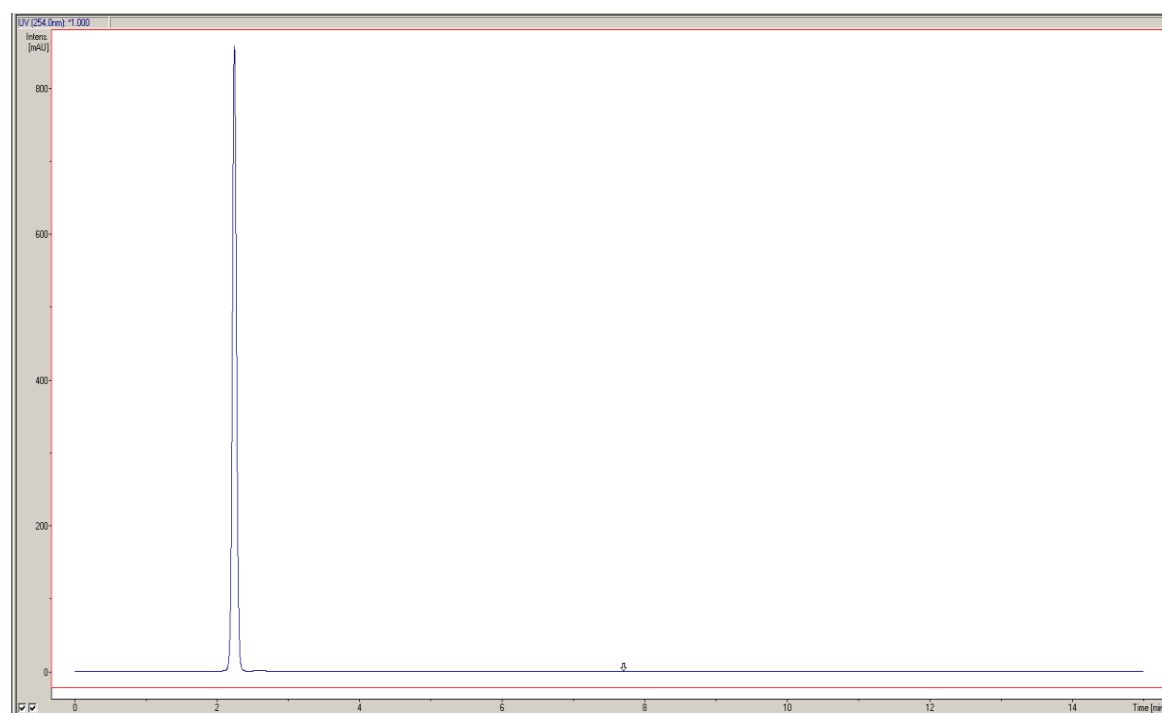


# PŘÍLOHA P II: CHROMATOGRAM STANDARDU KYSELINY ASKORBOVÉ

**5  $\mu\text{g.ml}^{-1}$**



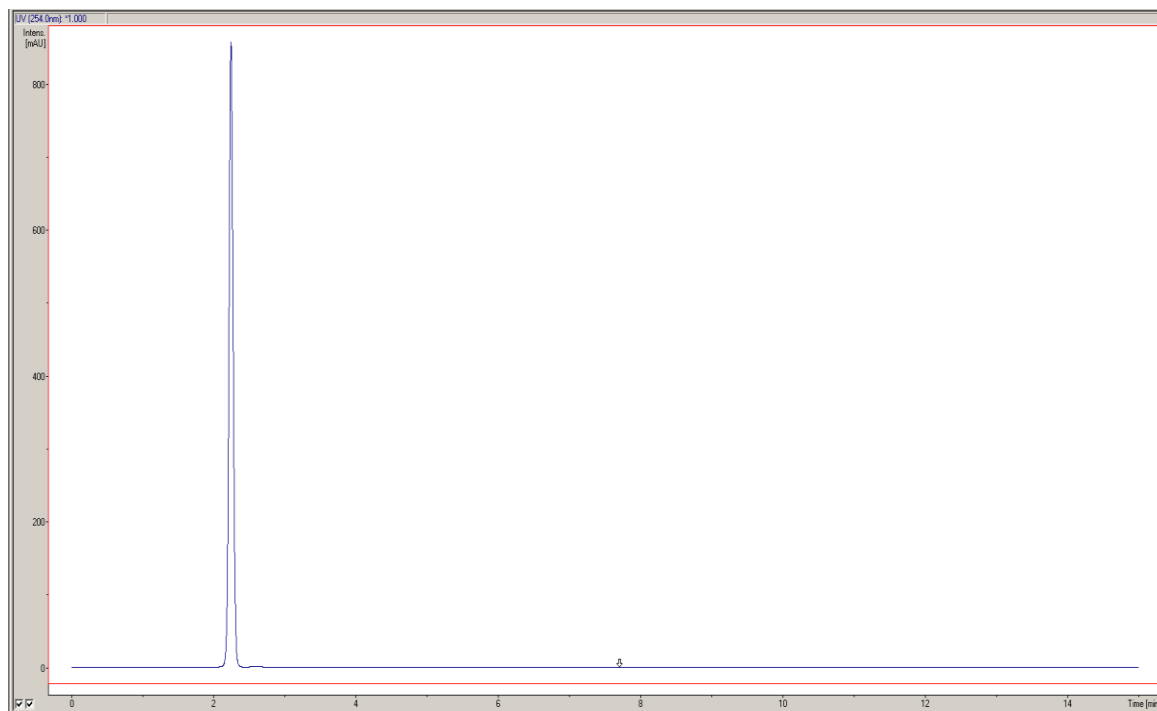
**6  $\mu\text{g.ml}^{-1}$**



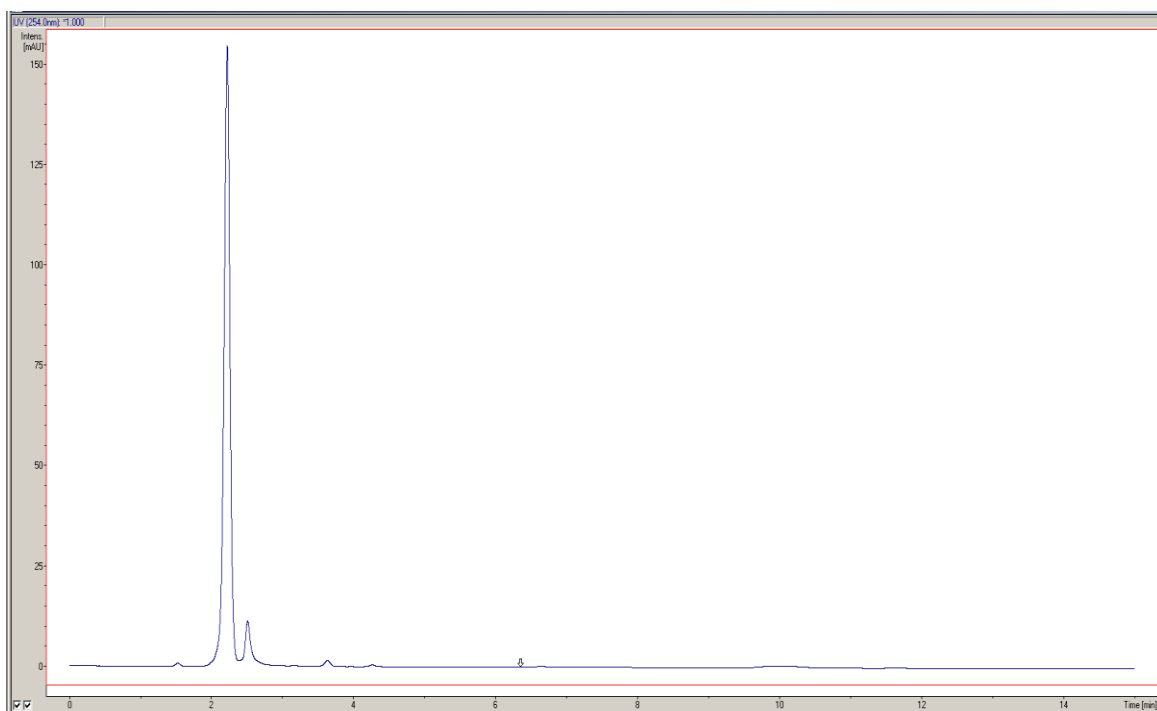


# PŘÍLOHA P III: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V CITRONU – VE ŠTÁVĚ

## 1. den skladování

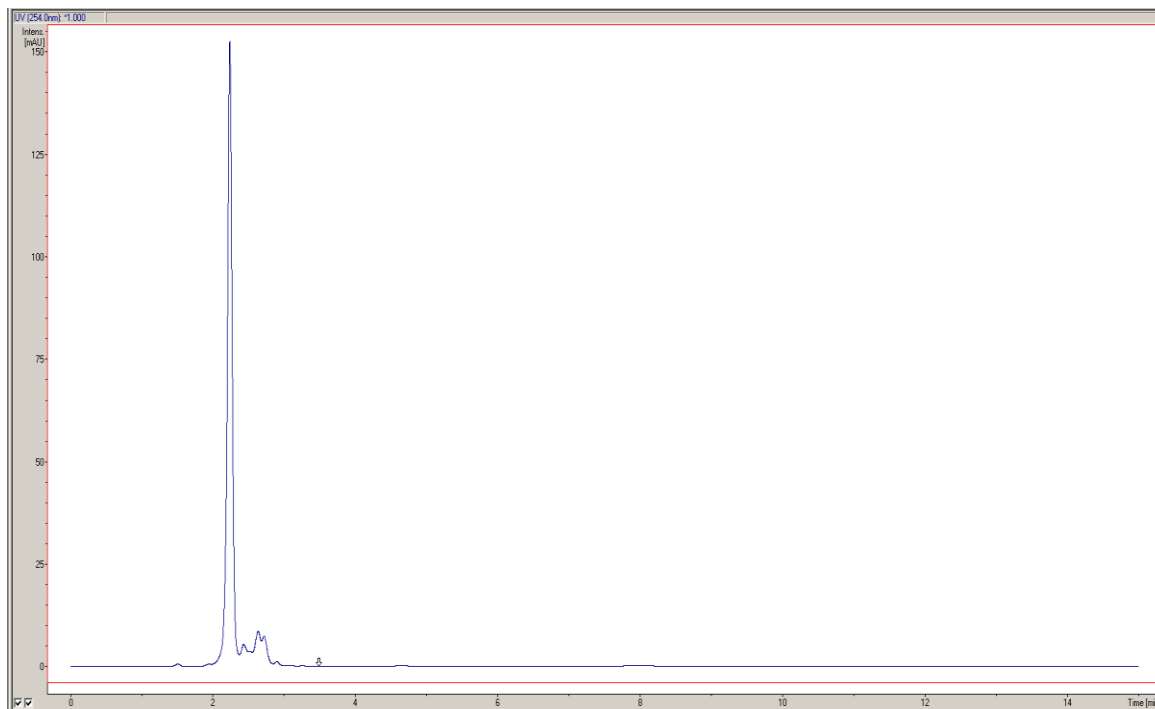


## 28. den skladování

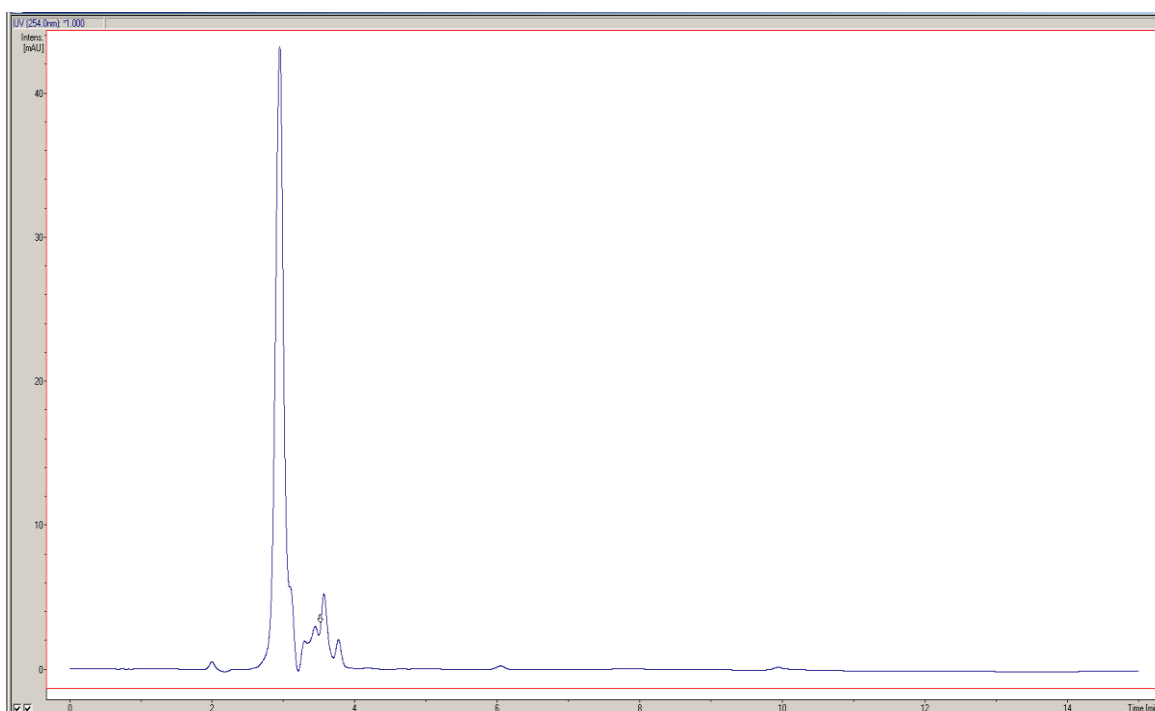


# PŘÍLOHA P IV: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V CITRONOVÉ ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování v uzavřené nádobě

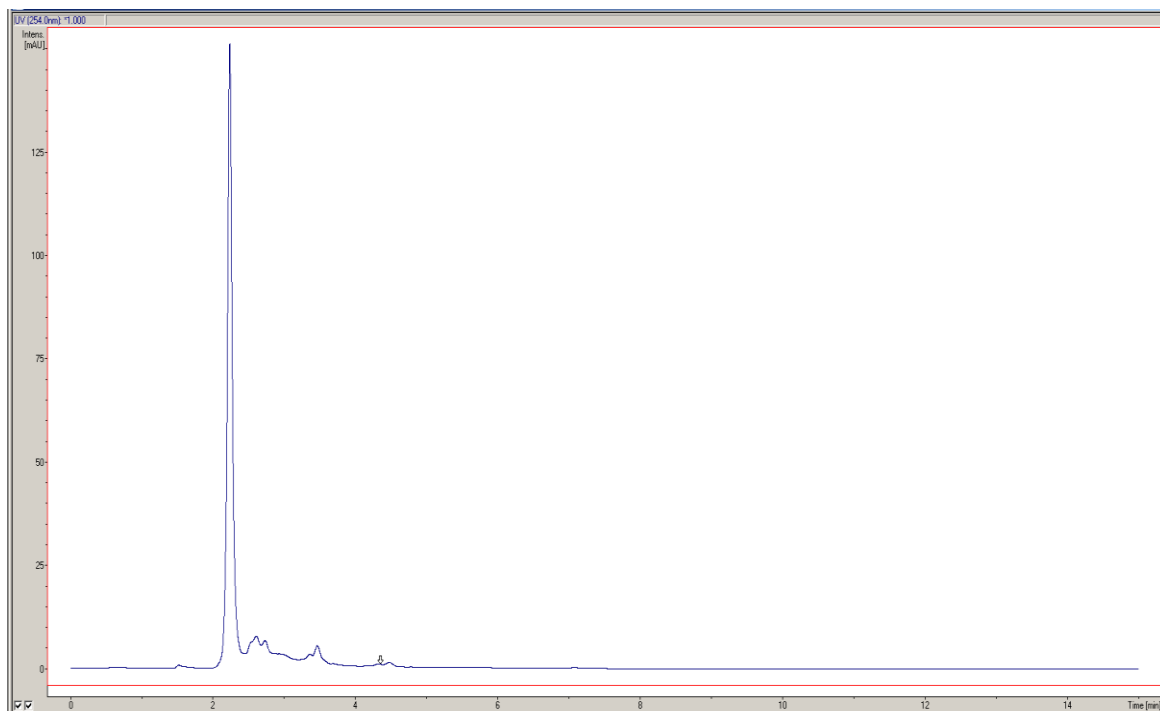


## 14. den skladování v uzavřené nádobě

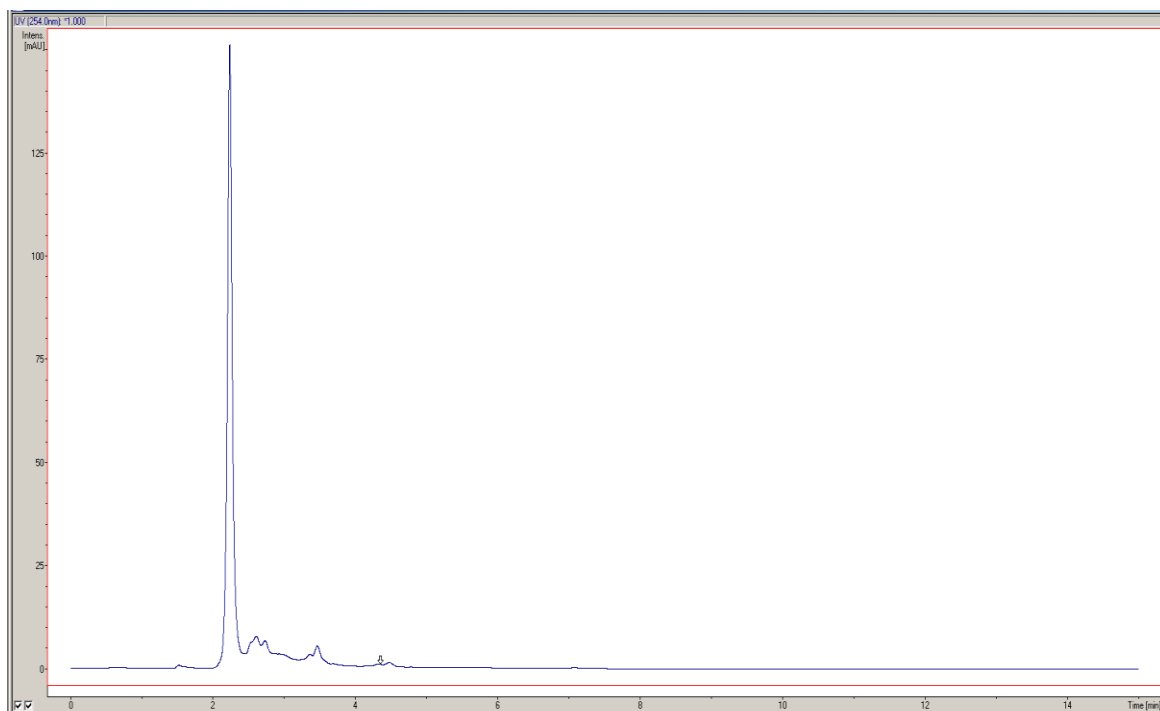


# PŘÍLOHA P V: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V CITRONOVÉ ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování v otevřené nádobě

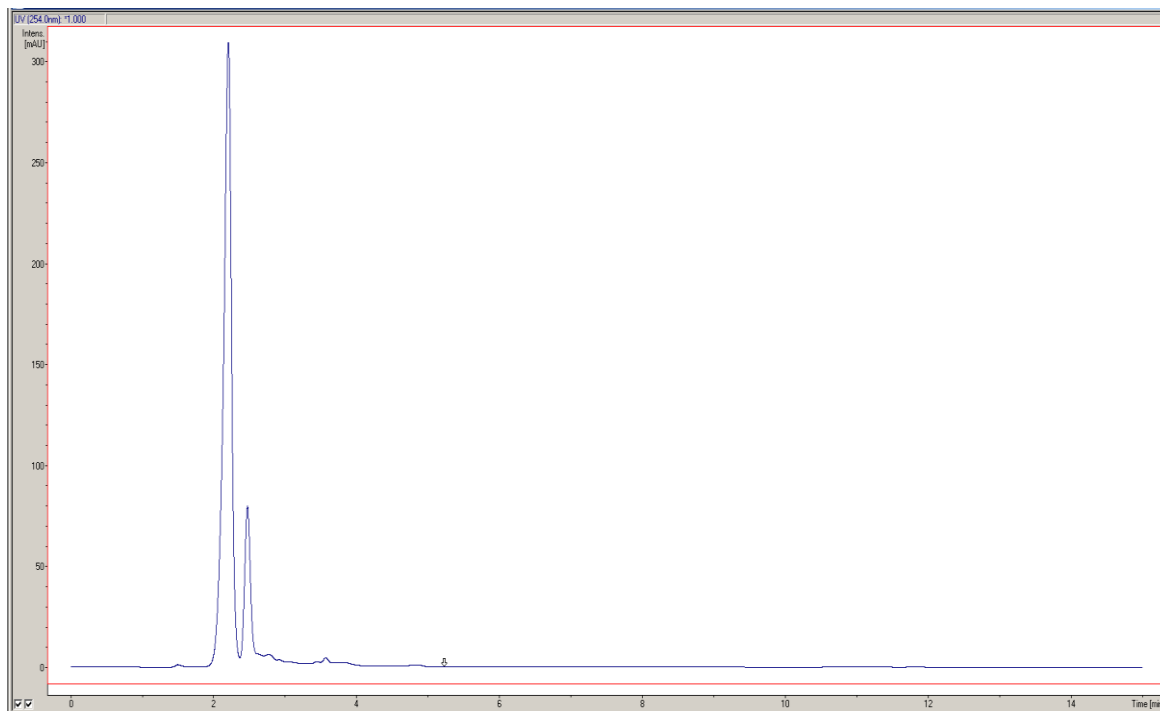


## 5. den skladování v otevřené nádobě

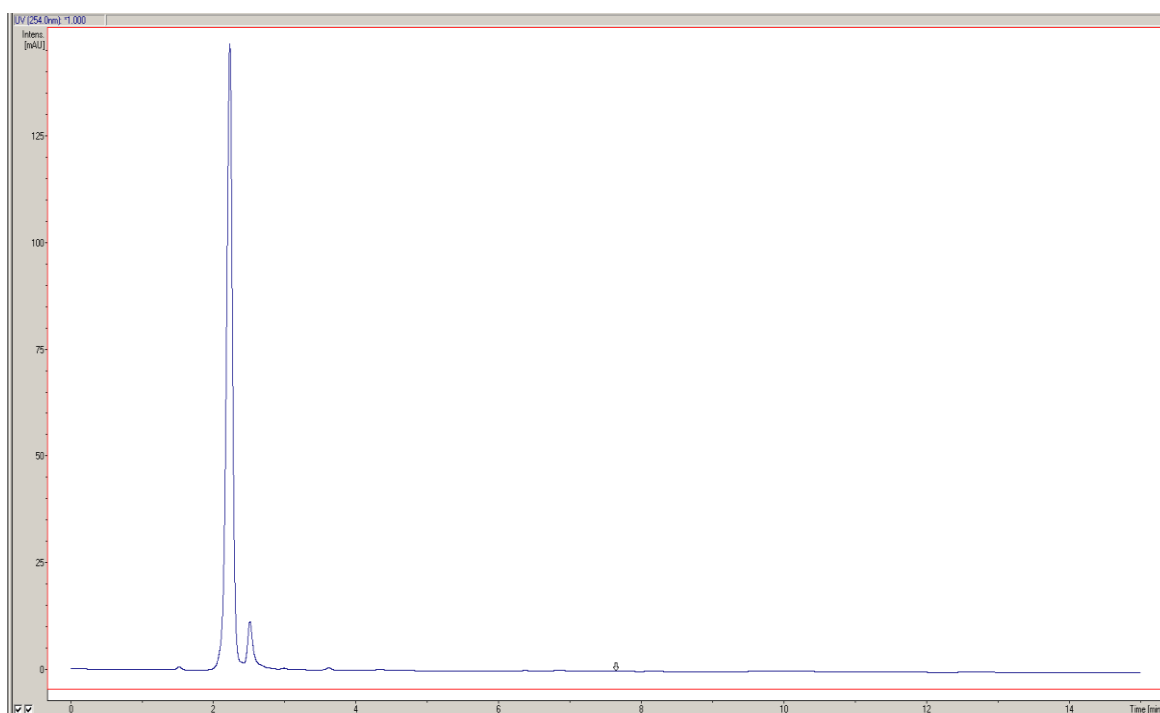


# PŘÍLOHA P VI: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V POMERANČI - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

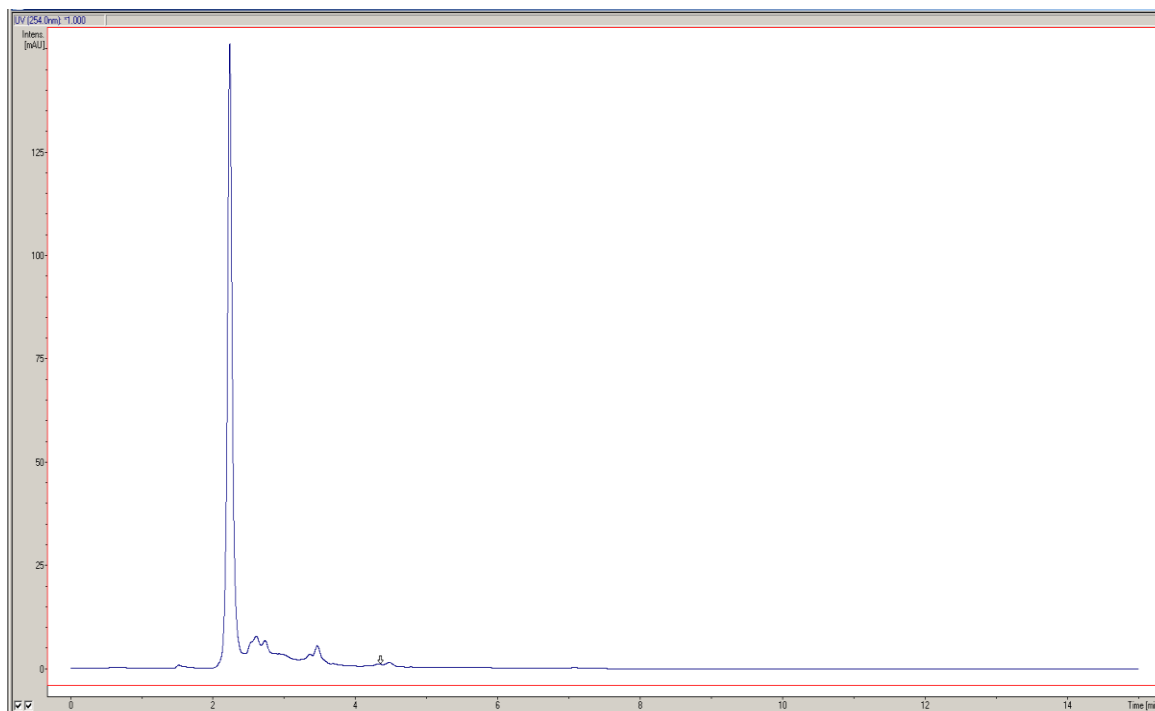


## 37. den skladování

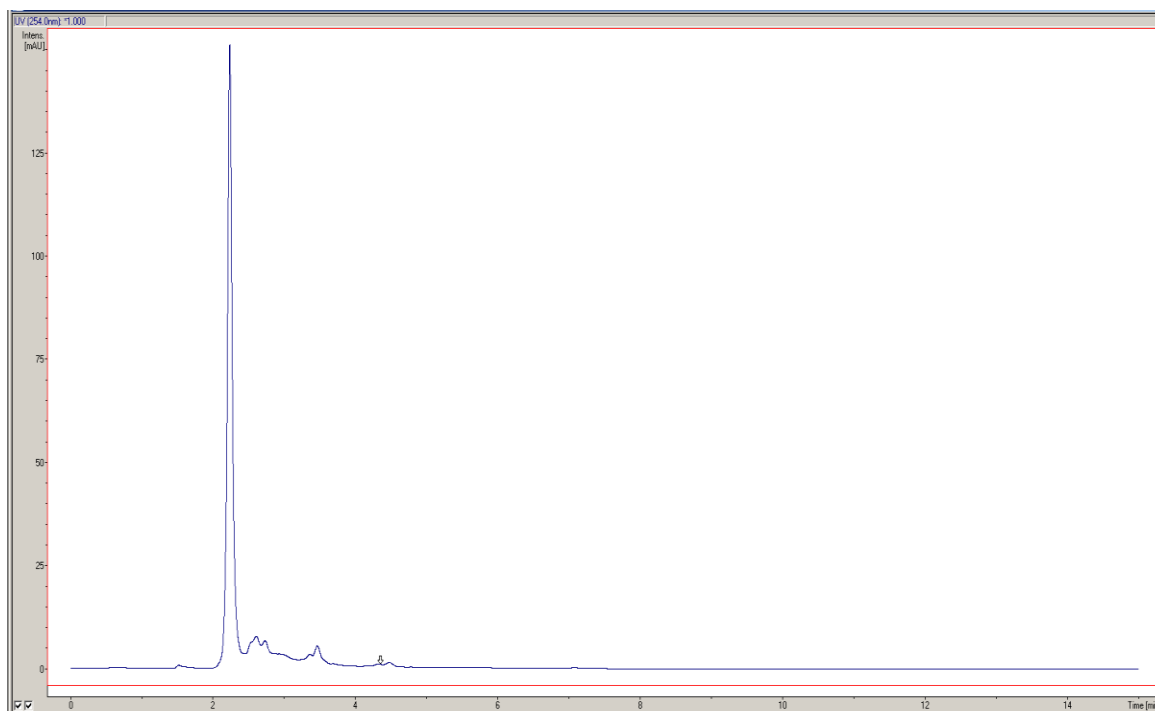


# PŘÍLOHA P VII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V POMERANČOVÉ ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování v uzavřené nádobě

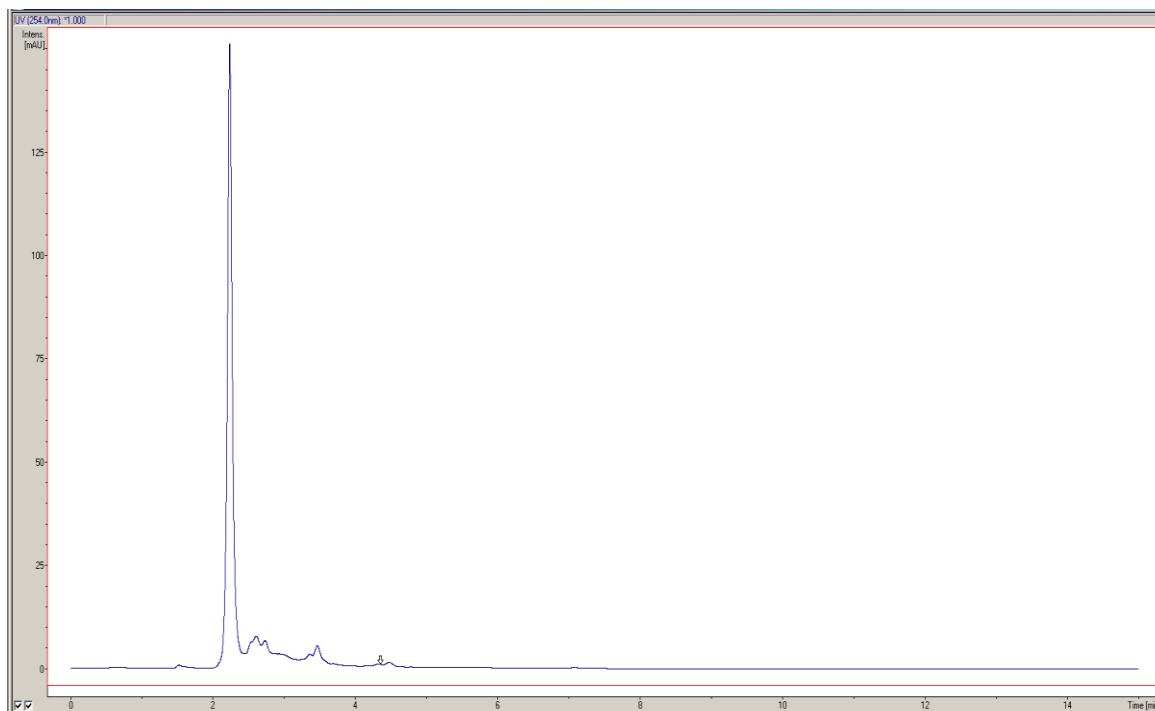


## 7. den skladování v uzavřené nádobě

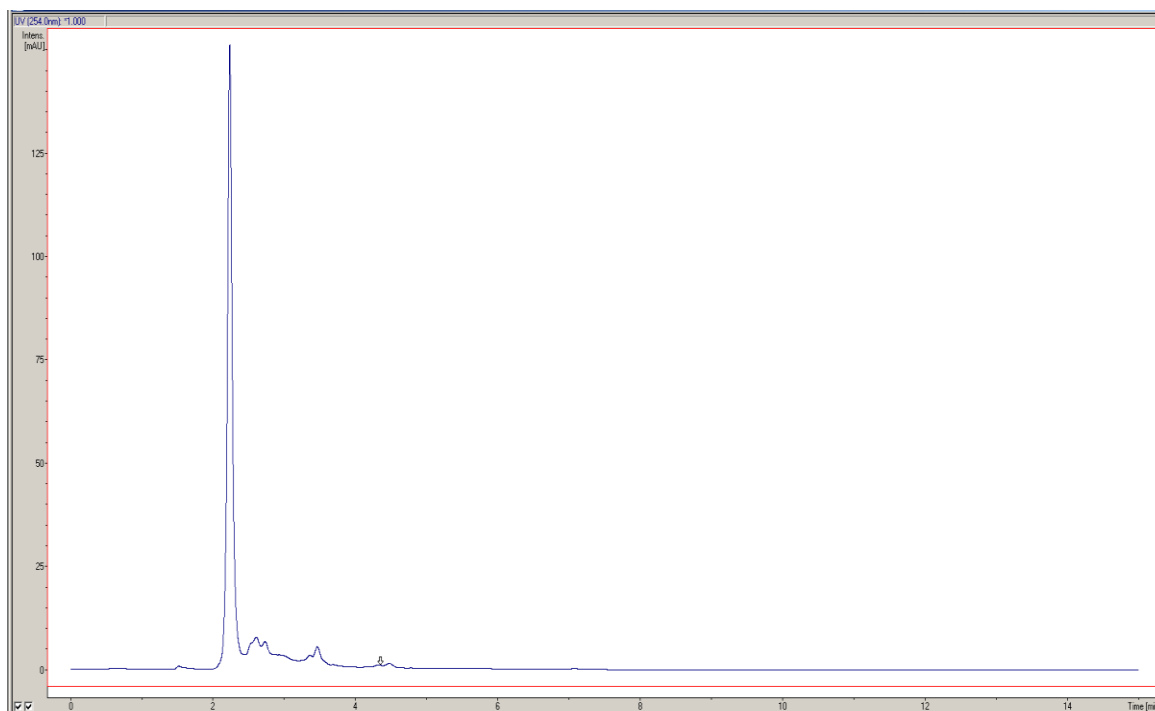


# PŘÍLOHA P VIII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V POMERANČOVÉ ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování v otevřené nádobě

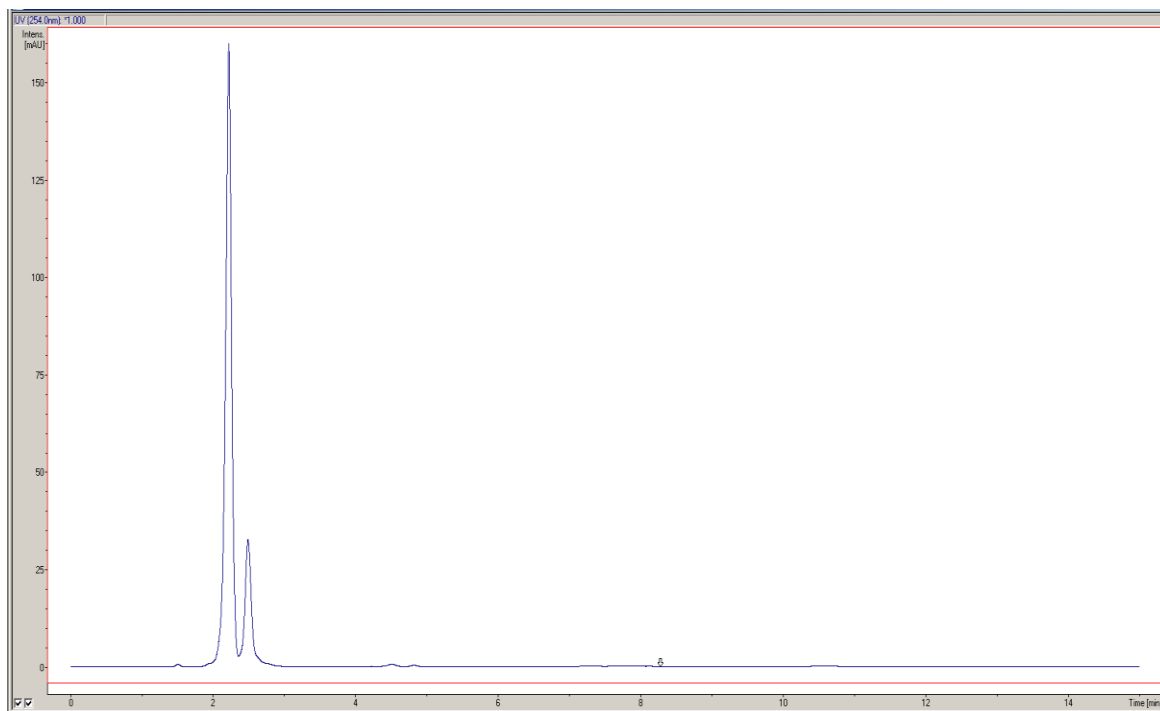


## 4. den skladování v otevřené nádobě

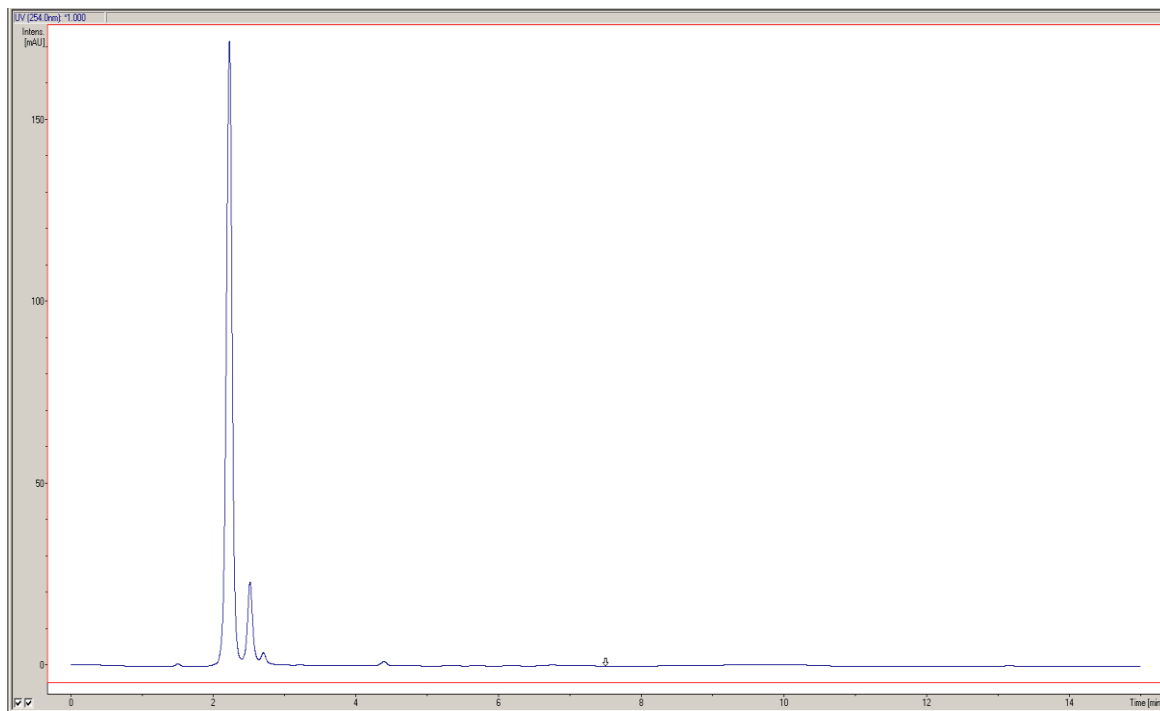


# PŘÍLOHA P IX: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V MANDARINCE - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

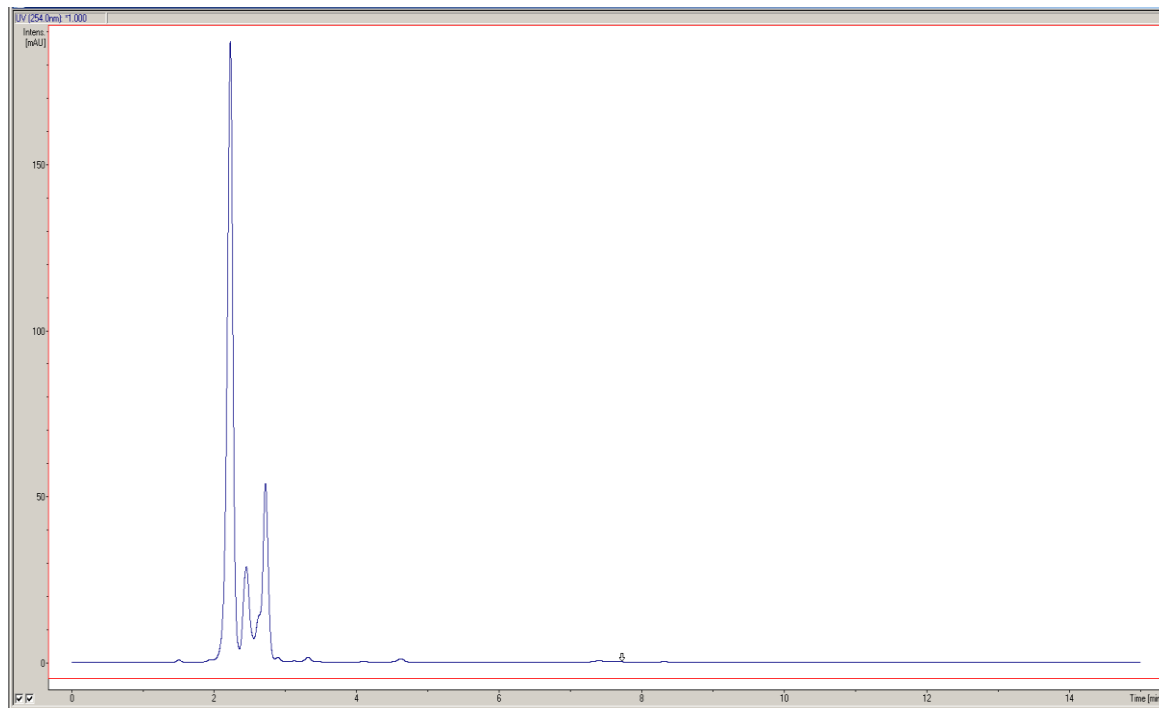


## 19. den skladování

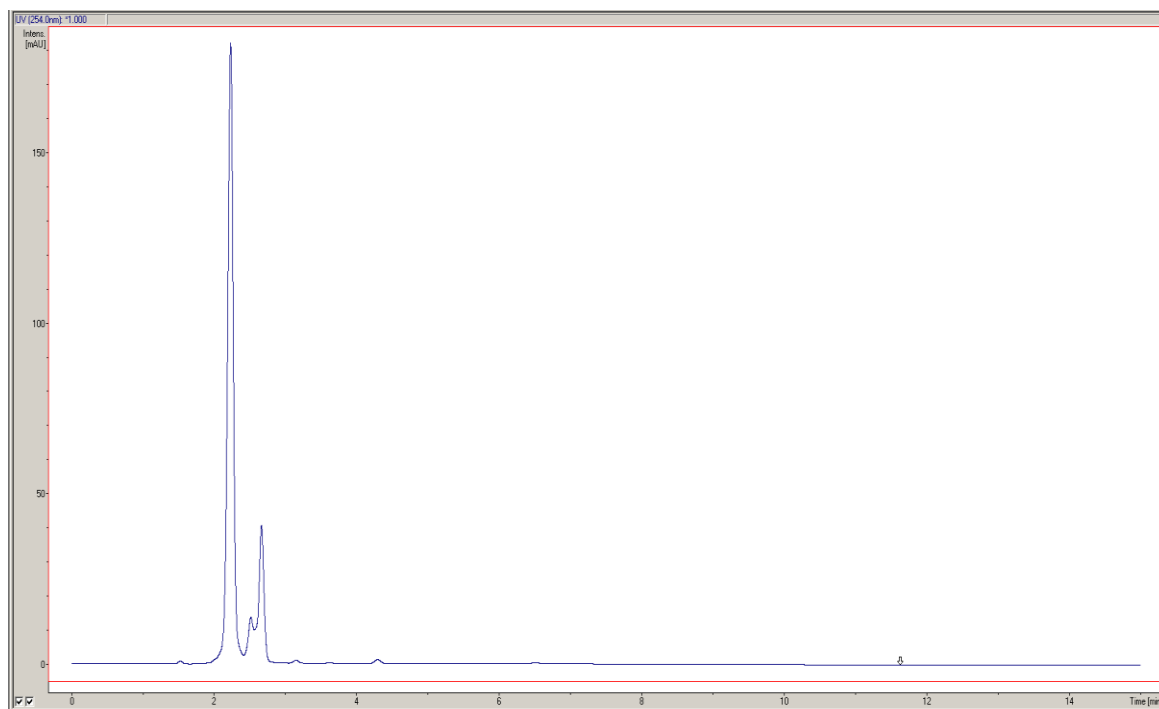


# PŘÍLOHA P X: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V LIMETĚ - VE ŠTÁVĚ

## 1. den skladování



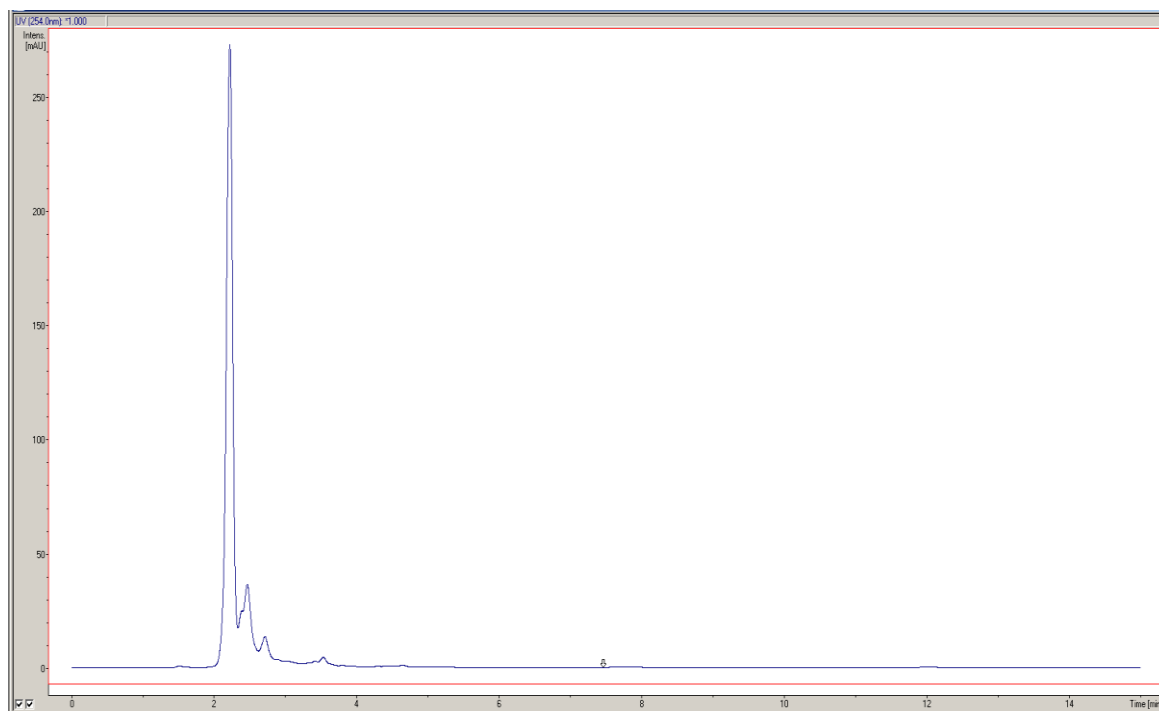
## 24. den skladování



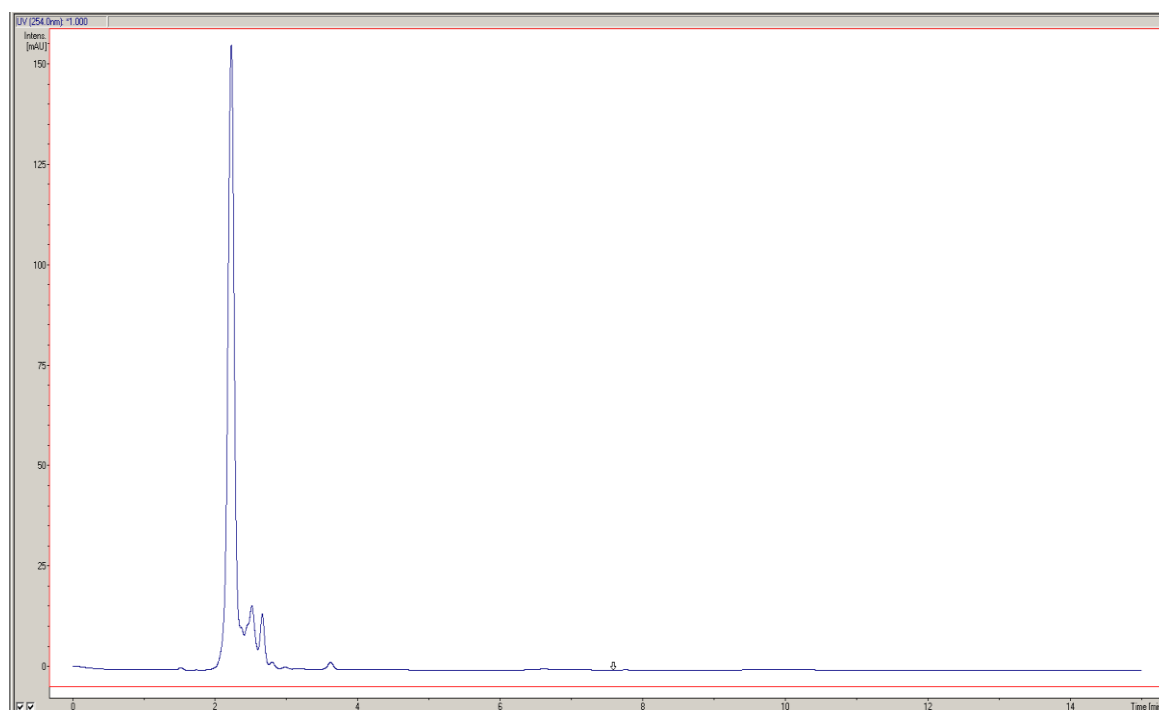


# PŘÍLOHA P XI: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V BÍLÉM GREPU - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

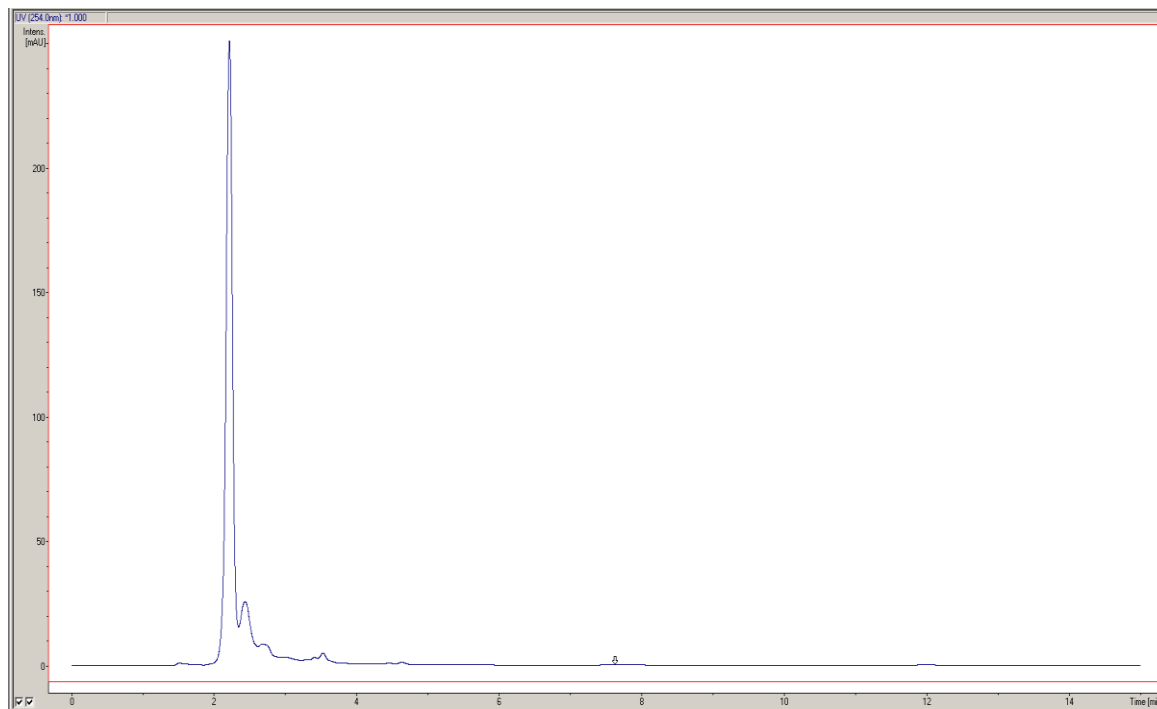


## 28. den skladování

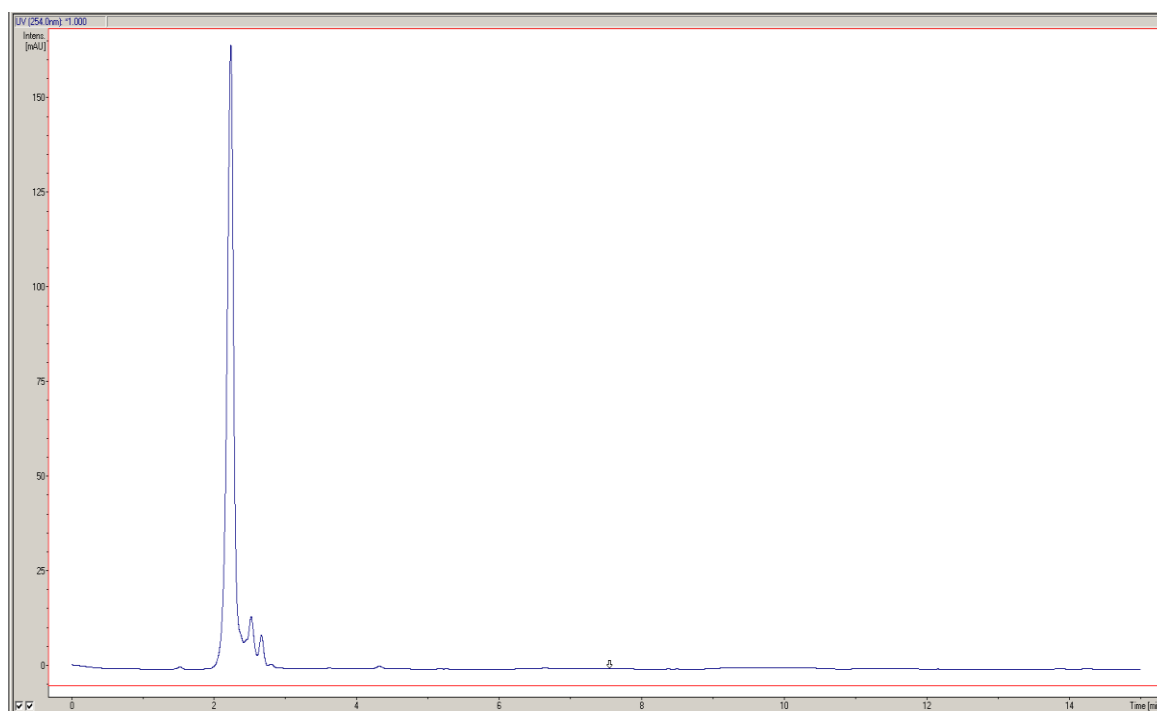


# PŘÍLOHA P XII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V ČERVENÉM GREPU - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

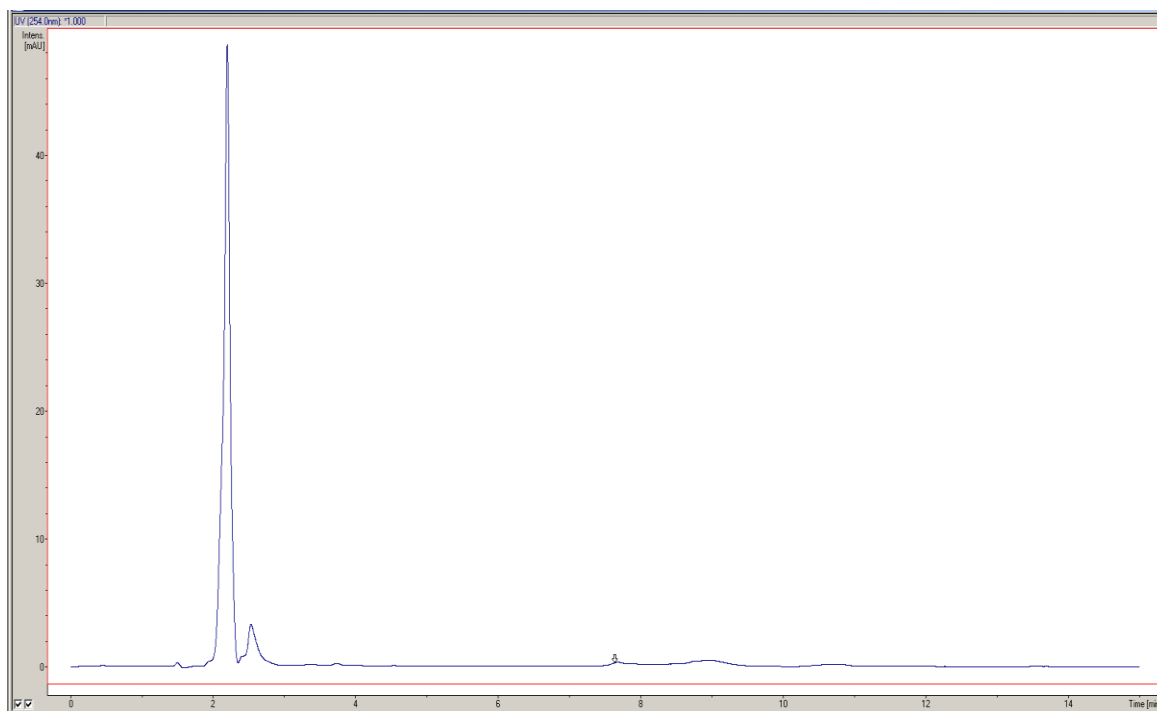


## 28. den skladování

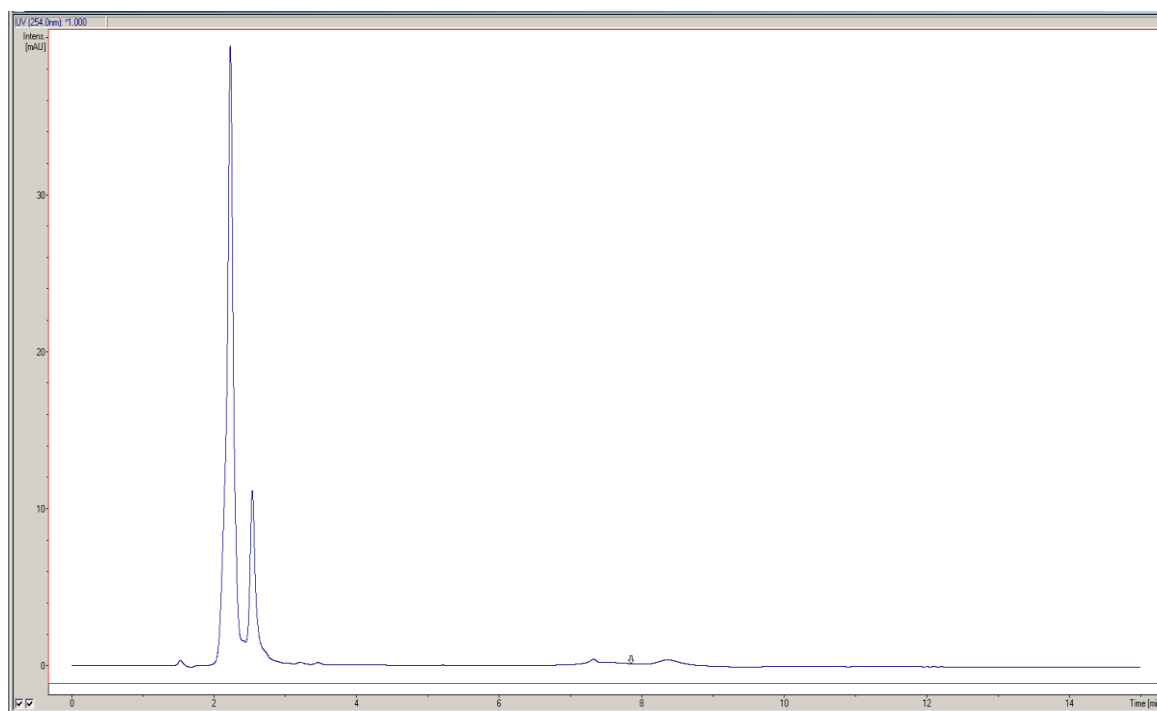


# PŘÍLOHA P XIII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V JABLKU GLOSTER - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

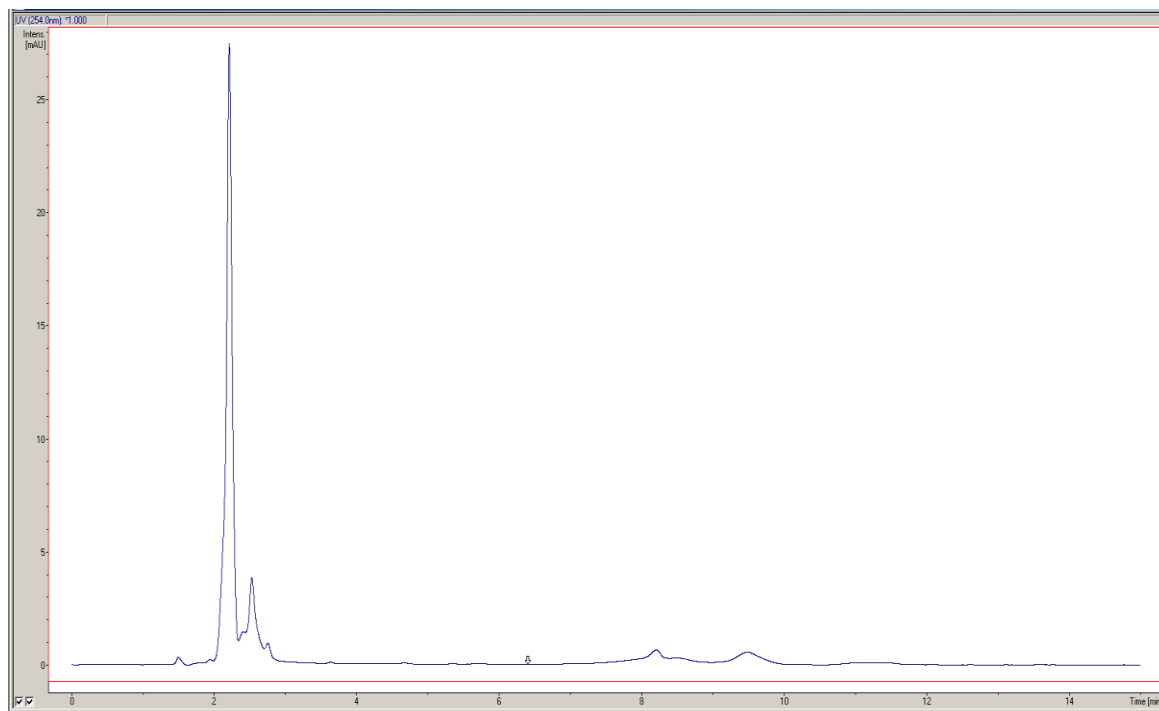


## 24. den skladování

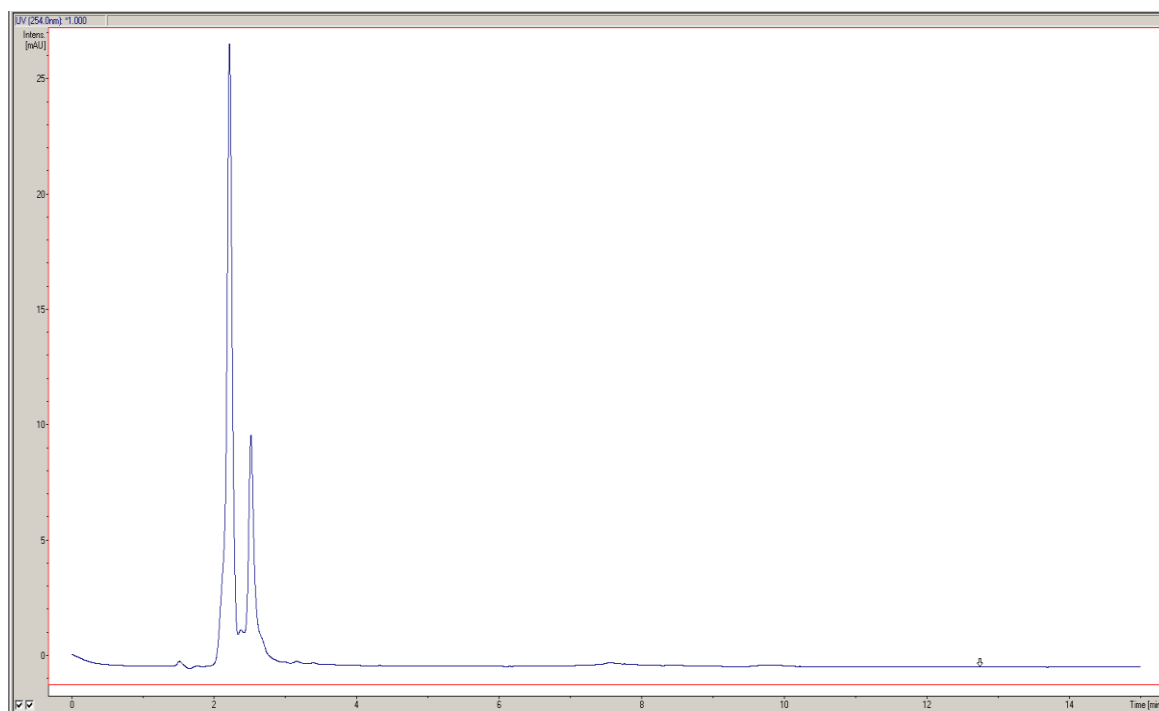


# PŘÍLOHA P XIV: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V JABLKU GOLDEN DELICIOUS - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

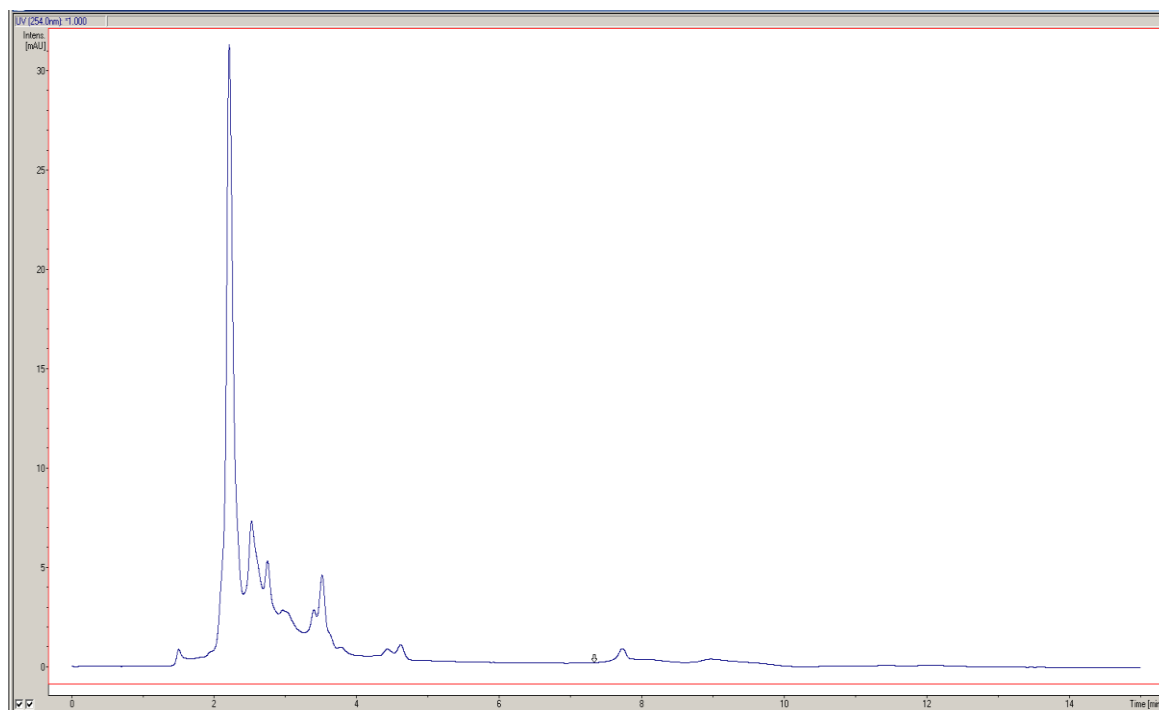


## 24. den skladování

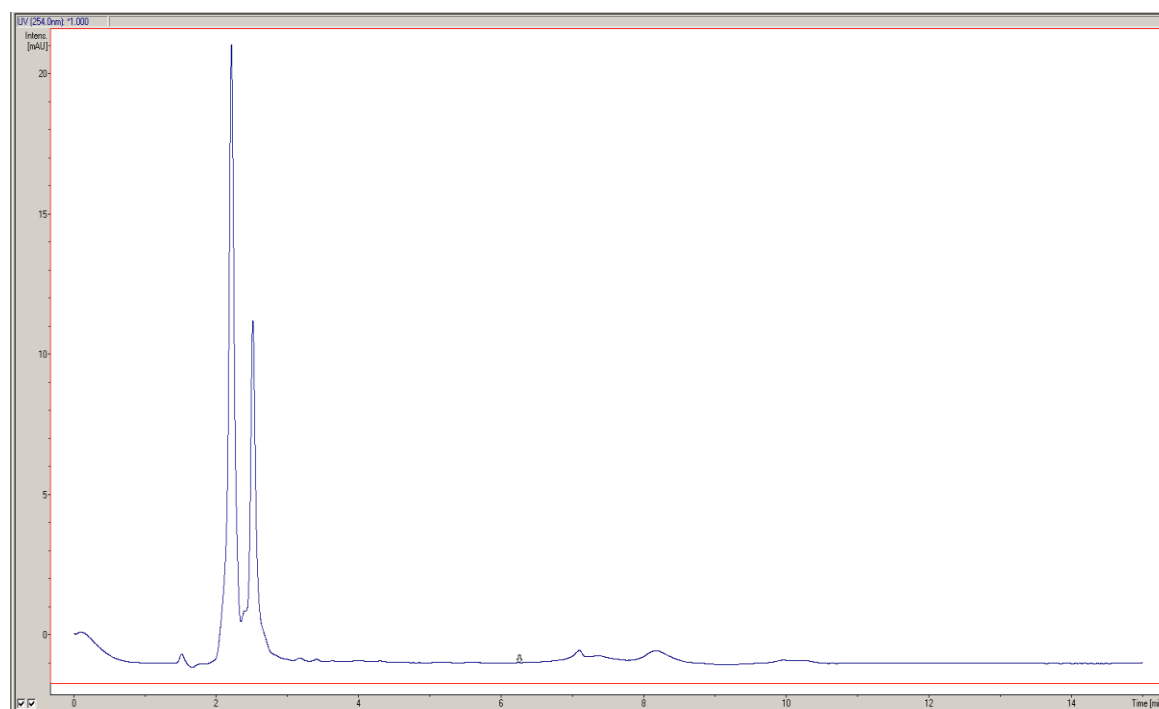


# PŘÍLOHA P XV: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V JABLKU GALA - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

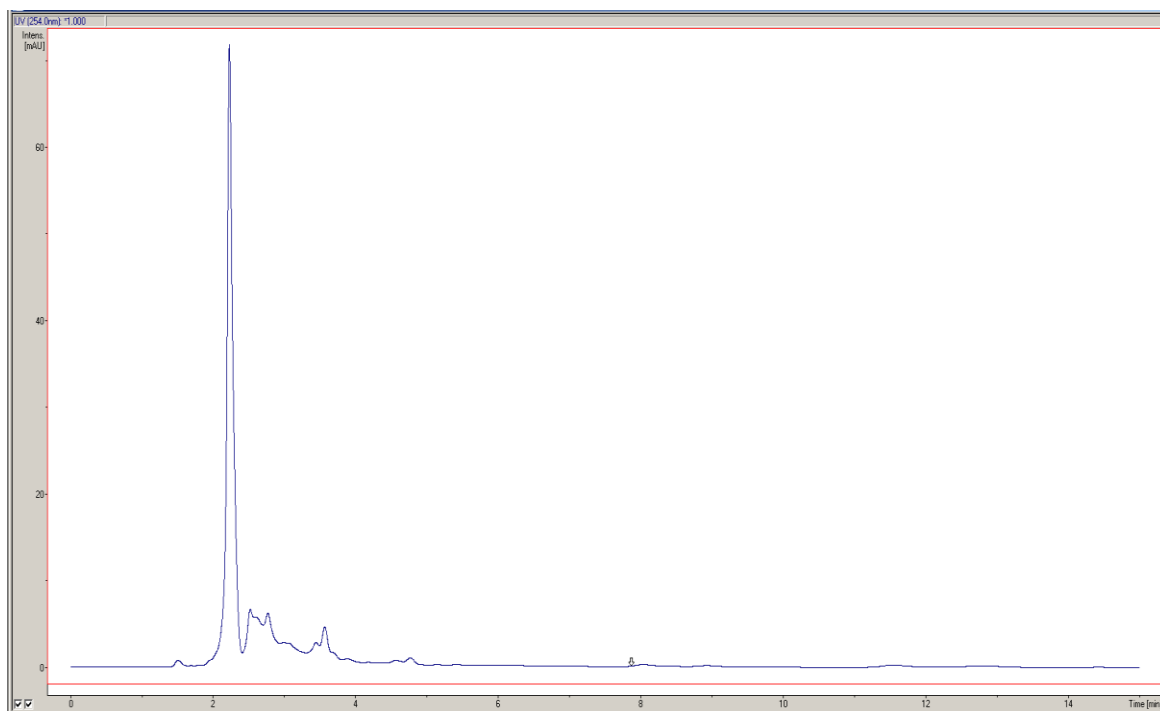


## 24. den skladování

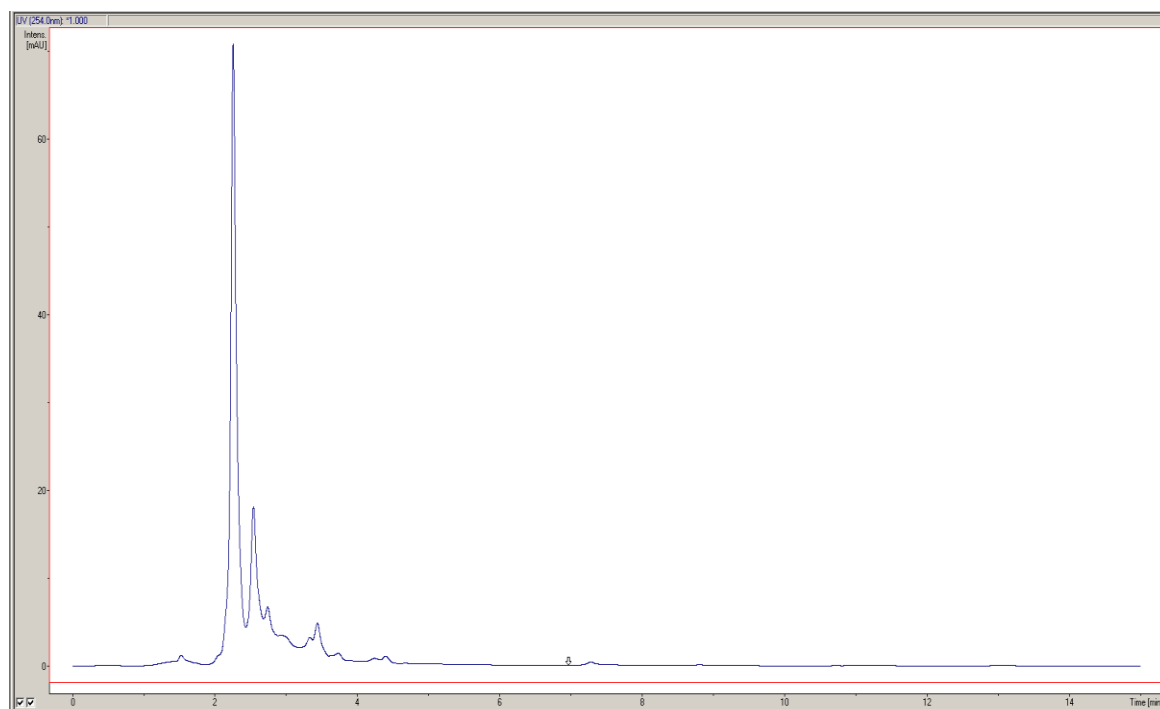


# PŘÍLOHA P XVI: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V KIWI - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

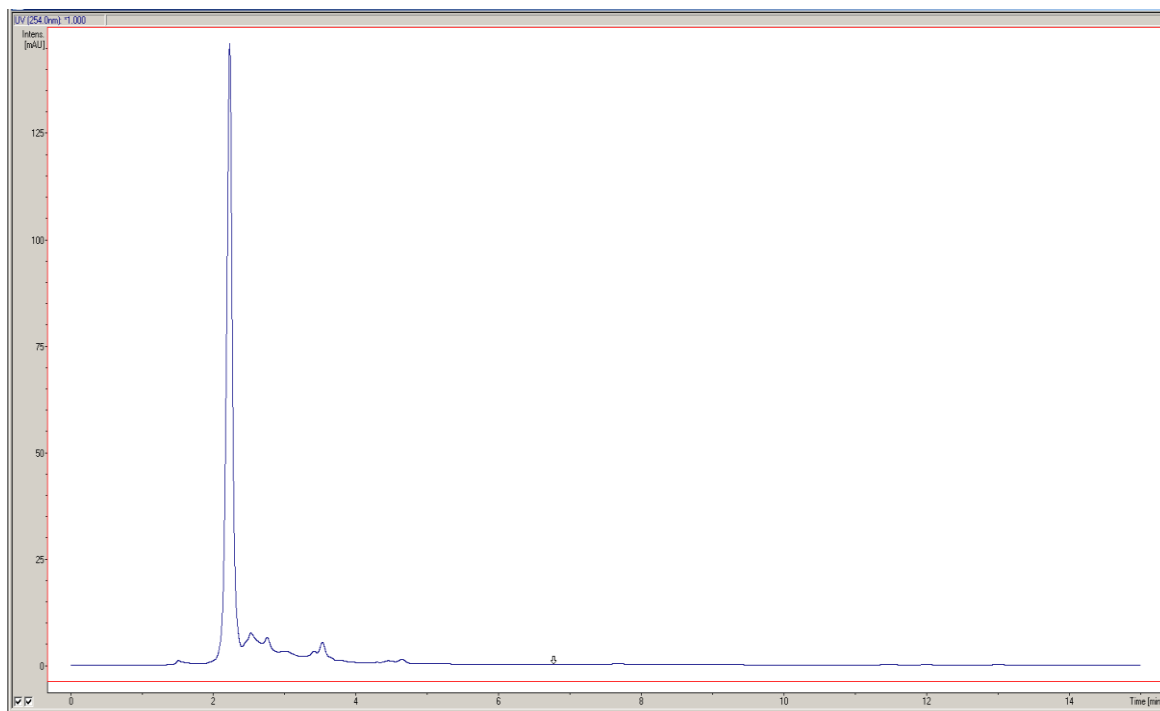


## 15. den skladování

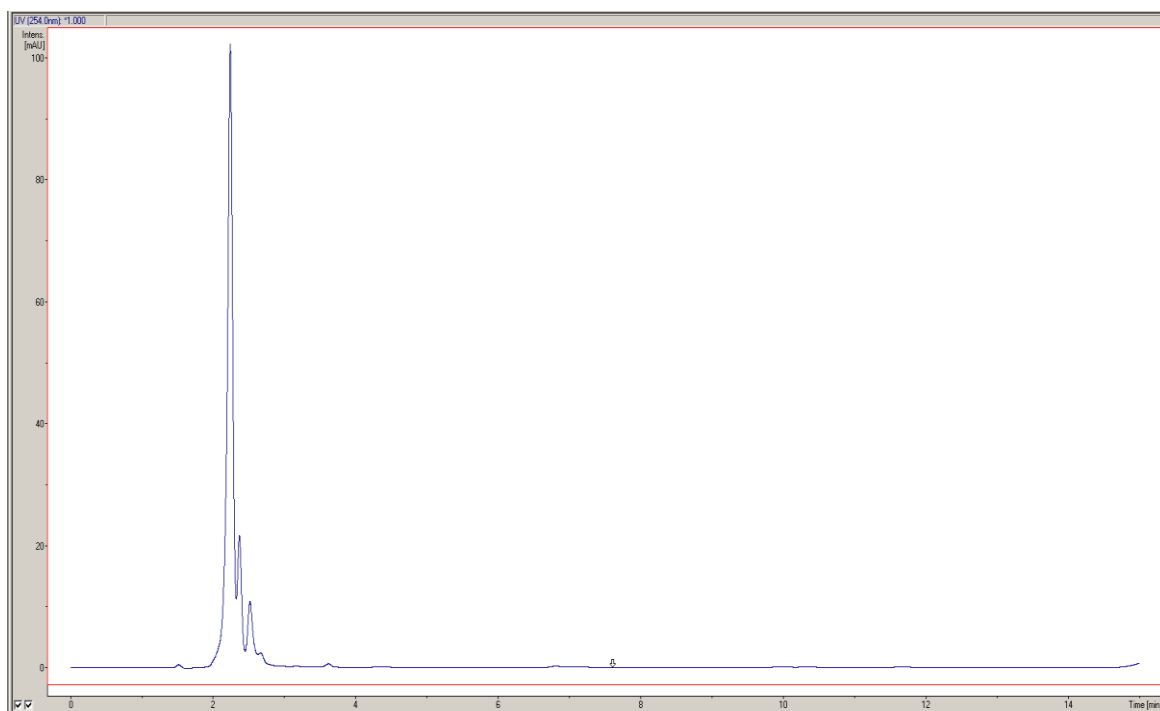


# PŘÍLOHA P XVII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V POMELU - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování

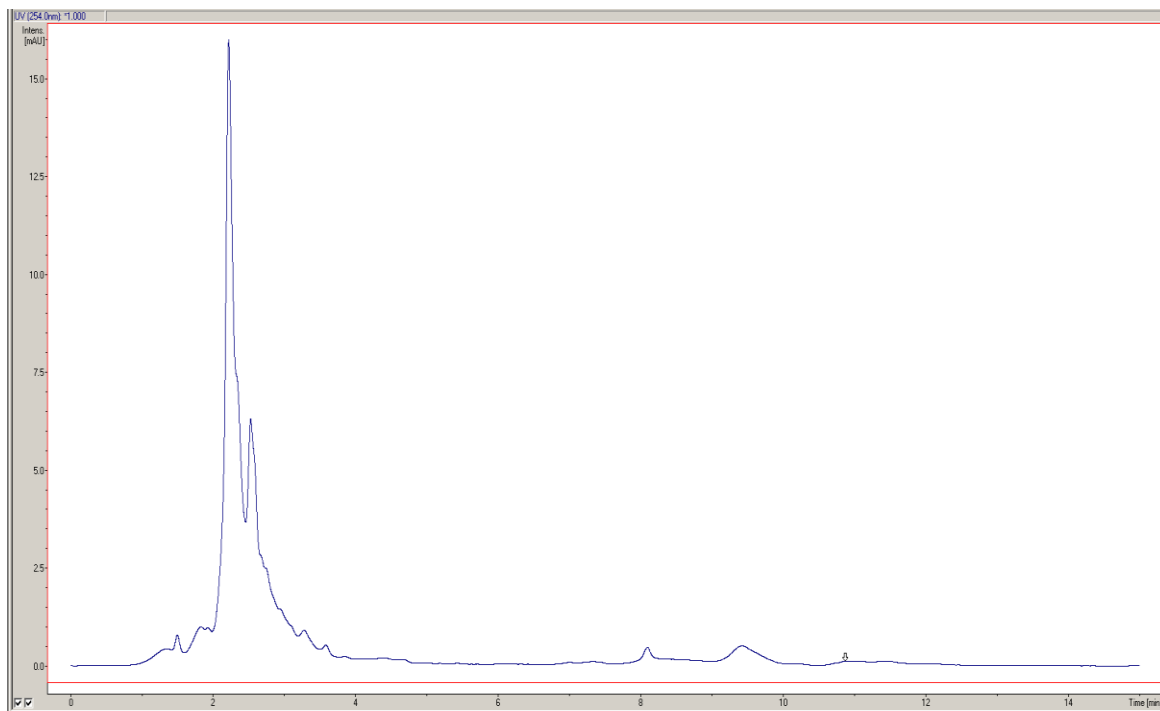


## 24. den skladování

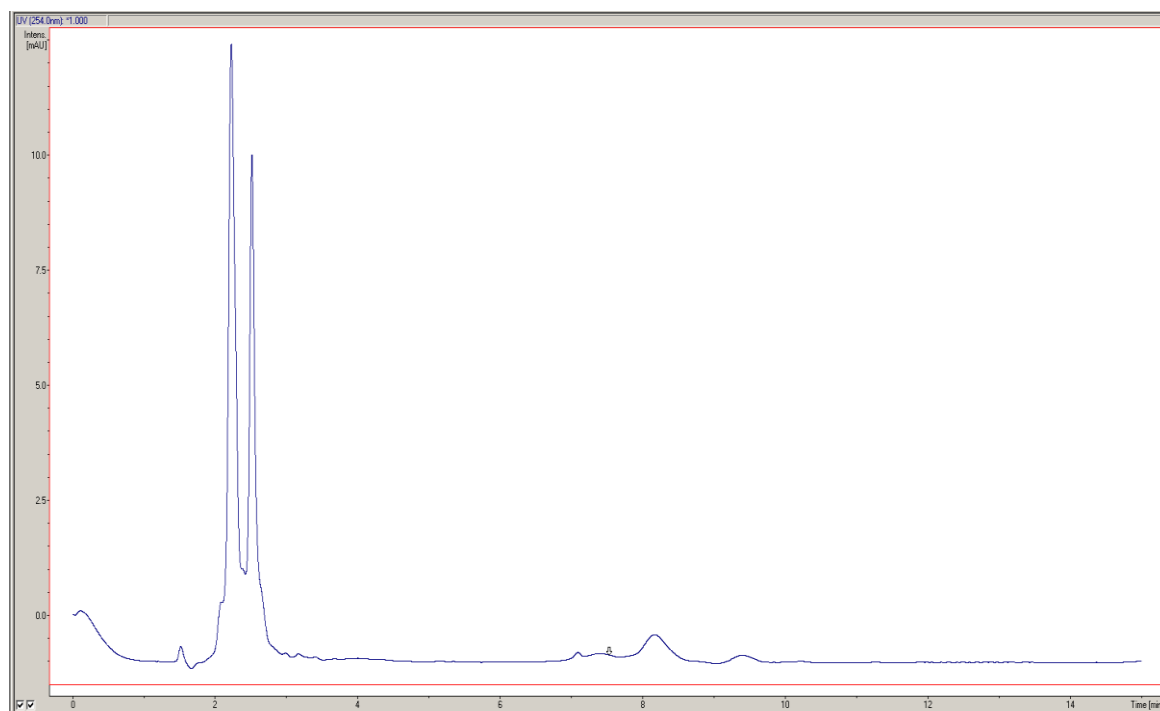


# PŘÍLOHA P XVIII: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V HRUŠCE - VE ŠŤÁVĚ

## 1. den skladování



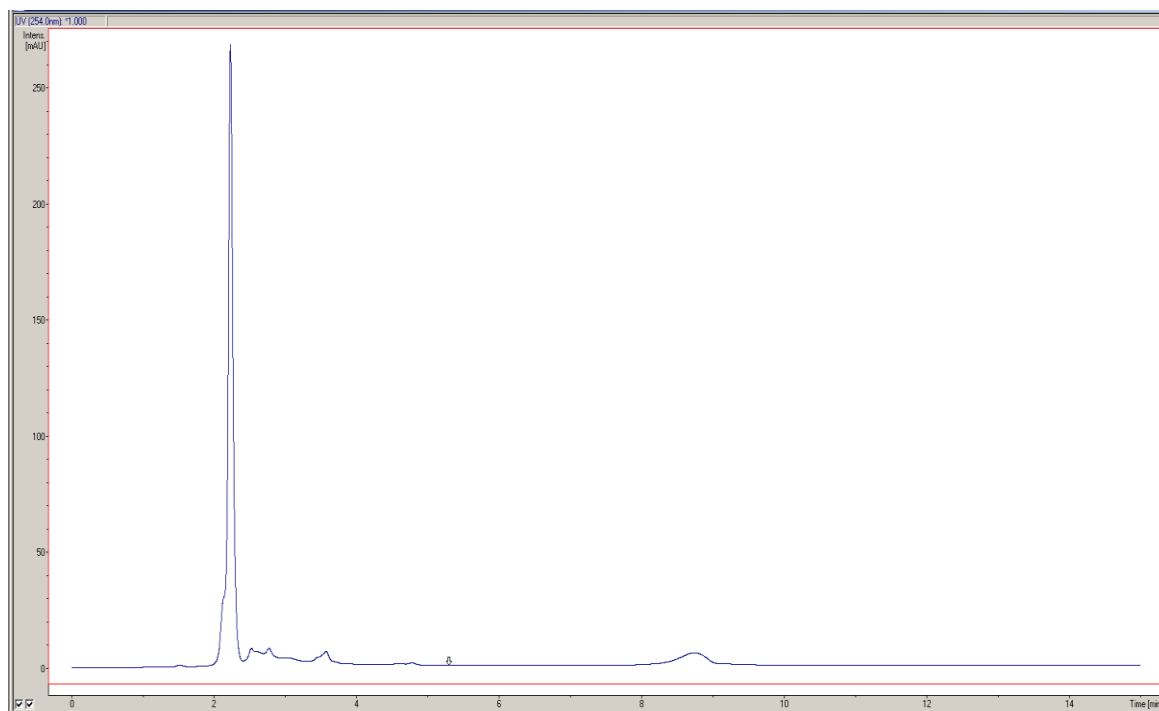
## 24. den skladování





# PŘÍLOHA P XIX: CHROMATOGRAM STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ V JAHODĚ - VE ŠŤÁVĚ

**9. den skladování**



**10. den skladování**

