

Technická univerzita v Liberci

**FAKULTA PŘÍRODOVĚDNĚ-HUMANITNÍ
A PEDAGOGICKÁ**

Katedra: Katedra chemie
Studijní program: Učitelství pro 2. stupeň ZŠ
**Studijní obor
(kombinace)** Chemie - Matematika

Analýza sacharidů ve vybraných plodech
Analysis of Carbohydrates in Selected Fruits
**Análisis de los carbohidratos en frutos
seleccionados**

Autor:
Kateřina Kvapilová

Podpis:

Adresa:
Vitanovice 8
463 45, Pěňčín u Liberce

Vedoucí práce: Mgr. Irena Šlamborová, Ph.D.

Konzultant: Ing. Jana Müllerová, Ph.D.

Počet

stran	obrázků	tabulek	pramenů	příloh
76	33	2	58	12 + 1CD

V Liberci dne: 10. 12. 2010

Prohlášení

Byl(a) jsem seznámen(a) s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom(a) povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracoval(a) samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

V Liberci dne: 10. 12. 2010

Kateřina Kvapilová

Poděkování

Děkuji vedoucí své diplomové práce Mgr. Ireně Šlamborové, Ph.D. za všechny podnětné návrhy a připomínky, za poskytnutou podporu, velkou trpělivost a vstřícnost, kterými mi velice pomohla v průběhu psaní této práce.

Dále bych chtěla poděkovat všem, kteří mě v mém snažení podporovali a pomáhali mi najít správnou cestu.

Analýza sacharidů ve vybraných plodech

Jméno a příjmení autorky: **Kateřina KVAPILOVÁ**
Akademický rok odevzdání DP: **2010/2011**
Vedoucí DP: **Mgr. Irena Šlamborová, Ph.D.**

Anotace

Tato diplomová práce se zabývá stanovením sacharidů ve vybraných jabloňových odrůdách. Cílem bylo kvantitativně stanovit množství sacharidů alespoň dvěma nezávislými metodami.

Diplomová práce má dvě stěžejní části.

Teoretická část, postavená na základě literárních pramenů, obsahuje popisy vybraných jabloňových odrůd, ze kterých byly získávány vzorky. Dále jsou v této části popsány principy metod, kterými byly vzorky v podobě moštů zpracovány.

Praktická část diplomové práce je zaměřena na podrobný postup jednotlivých metod a také jsou v ní uvedeny výsledky, které vyšly v průběhu zpracování.

V závěru diplomové práce je celý experiment zhodnocen.

Analysis of carbohydrates in selected fruits

Summary

This Diploma Thesis deals with content determination of carbohydrates in selected apple cultivars. The aim of the Thesis is to determine quantities of carbohydrates by at least two independent methods.

The Thesis is based on two fundamental areas.

The theoretical part, based on the literary sources, contains descriptions of selected apple cultivars from which all samples were obtained. The principles of methods used for elaboration of samples are also mentioned.

The practical part of the Diploma Thesis is focused on procedures in details of every method separately and also the results of processes.

The final part of the Diploma Thesis summarizes the whole experiment.

Análisis de los carbohidratos en frutos seleccionados

Anotación

Esta tesis de diploma se ocupa de la determinación de los carbohidratos en las variedades de manzanas seleccionadas. El objetivo de la tesis fue demarcar cuantitativamente la cantidad de los carbohidratos por los dos menos con métodos independientes.

La tesis de diploma tiene dos partes principales.

La parte teórica, basada en la literatura, contiene las descripciones de las variedades de manzanas seleccionadas de cuales se obtuvieron los especímenes. Los principios de métodos usaron para la elaboración de los especímenes son mencionados, también.

La parte práctica de la tesis de diploma se concentra en el procedimiento exacto de cada una método y en los resultados de la elaboración, también.

La última parte de la tesis de diploma evalúa el experimento completo.

1	ÚVOD.....	12
2	TEORETICKÁ ČÁST	13
2.1	JABLONĚ.....	13
2.1.1	<i>Botanické a pomologické zařazení jabloní.....</i>	13
2.1.2	<i>Morfologie jabloní</i>	14
2.1.2.1	Kořenový systém	14
2.1.2.2	Kmen.....	14
2.1.2.3	Koruna	15
2.1.2.4	Výhony	15
2.1.2.5	Pupeny	16
2.1.2.6	Plodonosné útvary.....	16
2.1.2.7	Listy	16
2.1.2.8	Květy.....	16
2.1.2.9	Plody.....	17
2.1.3	<i>Faktory ovlivňující pěstování jabloní.....</i>	18
2.1.3.1	Nadmořská výška.....	18
2.1.3.2	Světlo	18
2.1.3.3	Teplota	19
2.1.3.4	Vzduch.....	19
2.1.3.5	Voda.....	20
2.1.3.6	Půda	21
2.1.3.7	Konkrétní podmínky zkoumaných odrůd jabloní.....	22
2.1.4	<i>Zkoumané odrůdy jabloní</i>	22
2.1.4.1	Bohemia	23
2.1.4.2	Golden Delicious	24
2.1.4.3	Idared	25
2.1.4.4	James Grieve.....	26
2.1.4.5	Jonagored.....	27
2.1.4.6	Melodie	27
2.1.4.7	Melrose	29
2.1.4.8	Šampion	30
2.1.4.9	Topaz	31
2.2	SLOŽENÍ JABLEK	32
2.2.1	<i>Sacharidy</i>	32
2.2.1.1	Glukóza	34
2.2.1.2	Fruktóza	35
2.2.1.3	Sacharóza.....	36
2.2.1.4	Ostatní sacharidy.....	37

2.2.2	<i>Ostatní látky</i>	37
2.2.2.1	Voda.....	37
2.2.2.2	Obsah kyselin.....	38
2.2.2.3	Třísloviny.....	38
2.2.2.4	Aromatické látky.....	38
2.2.2.5	Vitamíny a minerální látky.....	39
2.2.2.6	Dusíkaté látky a tuky.....	40
2.3	VYBRANÉ METODY STANOVENÍ SACHARIDŮ V JABLEČNÝCH ŠŤÁVÁCH A MOŠTECH	41
2.3.1	<i>Chromatografie</i>	41
2.3.1.1	Chromatografie na tenké vrstvě	41
2.3.1.2	Papírová chromatografie	42
2.3.2	<i>Klasické analytické metody</i>	43
2.3.2.1	Stanovení redukujících sacharidů podle Luffa-Schoorla.....	43
2.3.2.2	Stanovení aldóz metodou Auerbacha-Bodlándera-Borriese.....	44
2.3.3	<i>Enzymové stanovení obsahu sacharidů</i>	44
2.4	DIABETES MELLITUS	46
2.4.1	<i>Co je diabetes a jeho typy</i>	46
2.4.2	<i>Postupy v léčbě diabetu</i>	47
2.4.3	<i>Diabetická dieta jako součást léčby</i>	49
2.4.4	<i>Zdravotní komplikace při onemocnění diabetem</i>	50
3	PRAKTICKÝ EXPERIMENT	54
3.1	ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ	55
3.2	CHROMATOGRRAFIE	56
3.2.1	<i>Chromatografie na tenké vrstvě</i>	56
3.2.2	<i>Papírová chromatografie</i>	57
3.2.2.1	Vzestupná chromatografie	57
3.2.2.2	Sestupná chromatografie	57
3.3	KLASICKÉ ANALYTICKÉ METODY	59
3.3.1	<i>Stanovení redukujících sacharidů metodou Luffa-Schoorla</i>	59
3.3.1.1	Příprava vzorků.....	59
3.3.1.2	Příprava Carrezova čířidla.....	59
3.3.1.3	Příprava Luffova roztoku	59
3.3.1.4	Příprava a standardizace roztoku 0,1M thiosíranu sodného	60
3.3.1.5	Postup při stanovení redukujících sacharidů	61
3.3.1.6	Stanovení redukujících sacharidů po inverzi.....	61
3.3.1.7	Stanovení sacharózy.....	62

3.3.2	<i>Stanovení aldóz metodou Auerbacha-Bodländera-Borriese</i>	62
3.3.2.1	Příprava vzorku	62
3.3.2.2	Příprava a standardizace 0,05M roztoku jódu	62
3.3.2.3	Postup při stanovení glukózy	63
3.3.2.4	Stanovení fruktózy	63
3.4	ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ	64
3.4.1.1	Chromatografie na tenké vrstvě	64
3.4.1.2	Vzestupná papírová chromatografie	64
3.4.1.3	Porovnání titračních stanovení a sestupné papírové chromatografie v kombinaci s optickým vyhodnocením	64
4	ZÁVĚR	67
5	LITERATURA	68
5.1	KNIŽNÍ PUBLIKACE	68
5.2	ELEKTRONICKÉ ZDROJE	69
6	SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK	75
7	SEZNAM PŘÍLOH	76

1 ÚVOD

Sacharidy se řadí společně s lipidy a proteiny mezi látky, které jsou v životě člověka nepostradatelné především z jeho hlediska výživy a zdraví. S rozvojem a vývojem naší kultury dochází ke přeměnám životního stylu, ale tento vývoj jde bohužel ruku v ruce s nárůstem vzniku tzv. „civilizačních chorob“, mezi které patří především nemoci srdce a cév, vznik určitých nádorů, hemoroidů, žlučových kamenů, obezita a někdy s ní související vznik diabetu, který se, společně s dalšími zde nevyjmenovanými chorobami, do této skupiny řadí také.

Výskyt diabetu mellitu (cukrovky, dále jen diabetes), který může postihnout kohokoliv bez rozdílu věku, ale i dalších faktorů, je v posledních letech na vzestupu, což dokazují neustále rostoucí čísla v lékařských ordinacích. V České republice je v současné době přibližně 800 000 léčených diabetiků, ale odborné odhady hovoří až o dalších 250 000 těch, kteří nemocní diabetem jsou, ale neví o tom, a proto nejsou léčeni. Pravděpodobně je důvodem i to, že o léčbě diabetu se stále mluví velmi málo a tito lidé pravděpodobně ani netuší, že by mohli patřit mezi skupiny, které jsou pro výskyt diabetu rizikovější.⁴⁰

Základem léčby diabetu je v současné době především dodržování předepsané diety a podle nové vyhlášky užívání léků ihned po stanovení diagnózy.^{27, 28, 29}

Téma diplomové práce je voleno záměrně s ohledem na výskyt diabetického onemocnění u mých příbuzných nebo přátel (ať již trpí diabetem 1. nebo 2. typu). Cílem je určit obsah sacharidů v jednotlivých jablečných odrůdách a zjištěné výsledky zhodnotit z hlediska vhodnosti konzumace jednotlivých odrůd v průběhu diabetologické diety. Zkoumané odrůdy jsou voleny s ohledem na výskyt a rozšíření pěstování. Jedná se především o odrůdy vyšlechtěné na území ČR, které jsou přivyklé zdejším klimatickým podmínkám (Bohemia, Melodie, Šampion, Topaz), ale i další pěstované celosvětově (Golden Delicious, Idared, James Grieve, Jonagored, Melrose).

Zvolenými metodami jsou metody chromatografické spojené s optickým vyhodnocením a metody analytické (titrační).

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 JABLONĚ

Jabloně patří mezi nejčastěji pěstované ovoce na území České republiky. Dalšími pěstovanými druhy jsou hrušně, třešně, višně, meruňky a broskvoně (na Moravě), švestky, rybízy. Podle současných lékařských doporučení a zásad zdravé výživy by roční spotřeba ovoce v přepočtu na jednoho obyvatele měla být okolo 100 kg, momentálně však odpovídá asi 80 kg na jednoho obyvatele a rok. Největší podíl z této spotřeby činí jablka s přibližně 25 kg. Nejoblíbenějšími odrůdami jsou Golden Delicious, Idared, Jonagold, Gloster, Šampion, Rubín atd.⁵⁸ V současnosti se ale začínají vysazovat i nově vyšlechtěné rezistentní a vysoce tolerantní odrůdy jako je Topaz, Rubinola, Angold, Julia atd., které byly vyšlechtěny ve Výzkumném a šlechtitelském ústavu ovocnářském v Holovousích nebo ve Výzkumné stanici Ústavu experimentální botaniky Akademie věd České republiky ve Střížovicích.

2.1.1 Botanické a pomologické zařazení jabloní

Botanicky se rod *Malus* (Jabloně) řadí do čeledi *Rosaceae* (Růžovité), podčeledi *Maloideae* (Jabloňovité). Pomologicky se jabloně řadí mezi jádrové ovoce, plodem jsou jablka (malvice).

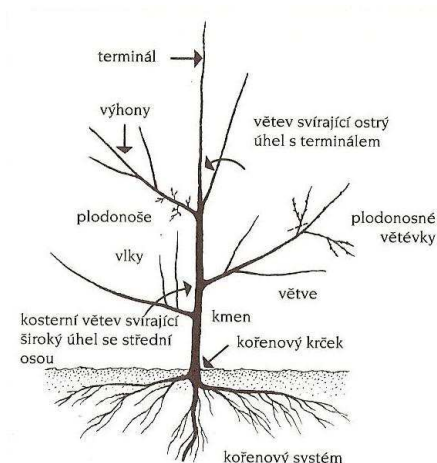
Do rodu *Malus* v současnosti zahrnuje přibližně 30 druhů původních a další desítky hybridních druhů. Všechny kulturní odrůdy se v současnosti zařazují do druhu *Malus x domestica* Borkh. (jabloň domácí) a z dalších planě rostoucích druhů se na vzniku evropských kulturních odrůd podílejí především *Malus sylvestris* (jabloň lesní), *Malus pumila* (jabloň nízká), *Malus prunifolia* (jabloň slívolistá), *Malus baccata* (jabloň drobnoplodá) a *Malus floribunda* (jabloň mnohokvětá). Z poslední jmenované odrůdy jsou vyšlechtěny odrůdy rezistentní proti strupovitosti.¹³

Jednotlivé odrůdy se rozdělují na základě doby zrání na rané (letní), podzimní, pozdně podzimní až raně zimní, zimní a pozdně zimní. Dále se také rozlišuje sklizňová a konzumní zralost. V období sklizňové zralosti mají jablka

lehce nahnědlá až hnědá semena, slupka je vybarvená, jablka jsou snadno odlučitelná od plodonoše, a proto by měla být ideálně i v této době očištěna. V době konzumní zralosti dosahují jablka ideální chuti a i dalších vlastností. Sklizňová a konzumní zralost se může u jednotlivých odrůd buď překrývat (u letních odrůd), ale většinou se liší (od podzimních odrůd, které dozrávají za 2 až 8 týdnů až po pozdně zimní odrůdy, které dozrávají za 12 až 24 týdnů po sklizňové zralosti).¹³

2.1.2 Morfologie jabloní

Základní stavba stromů jabloní je stejná – tvořená kořenovým systémem, kmenem a korunou.



Obrázek 1: Schéma stavby jabloně¹

2.1.2.1 Kořenový systém

Kořenový systém jabloní je středně hluboký až mělký (zhruba 20 – 50 cm do hloubky), rozkládá se do šířky obrysu koruny stromu nebo ji i mírně přesahuje. Základ tvoří hlavní kořeny, které vyrůstají z kořenového krčku (přechod mezi kořenem a kmenem). Jabloně pěstované ze semena mají jeden silný hlavní kořen (jinak nazýván kůlový), u vegetativně rozmnožovaných podnoží hlavní kořen chybí a z podzemní osy přímo vyrůstají vedlejší kořeny.^{1,4}

2.1.2.2 Kmen

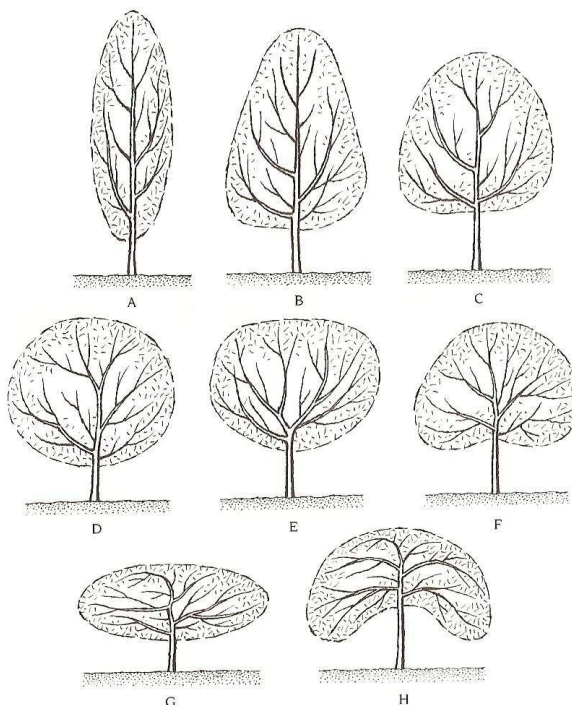
Kmen je nerozvětvenou částí (stonkem) stromu, která přechází v rozvětvenou korunu. Obvykle je vytvářen uměle (ovocnářské školky) odstraňováním postranních rozvětvení. Podle vzrůstu kmene rozlišujeme tvary stromů – vysokokmeny, polokmeny, čtvrtkmeny, zákrsky, vřetenovité zákrsky

a štíhlá vřetena. V současnosti se do podvědomí veřejnosti dostávají i sloupovité tvary jabloní (nebo-li kolumnární tvary či baleríny).^{1,4}

2.1.2.3 Koruna

Koruna je rozvětvenou částí stromu, jejíž tvar bývá z velké míry dán pěstovanou odrůdou, podnoží a také pěstitelskými tvary (také viz výše podle vzrůstu kmene).

V současném ovocnářství se kromě přirozeného růstu uplatňuje umělé tvarování – řezem a dalšími způsoby závislými na pěstovaných tvarech. Přirozená koruna je částečně až úplně potlačena u ovocných stěn (palmet) a štíhlých vřeten. Základem



Obrázek 2: Základní přirozené tvary korun jabloní¹:

A-sloupovitá, B-kuželovitá, C-vysoce kulovitá, D-kulovitá, E-ploše kulovitá, F-kuželovitě převislá, G-plochá, H-převislá

koruny je střední nebo osní větev, která je přímým pokračováním kmene a ze které vybíhají další větve po stranách. U určitých pěstovaných tvarů (např. pyramidálních) je žádoucí vytvářet „patra,“ kdy více větví vyráží přibližně ve stejné výšce z osní větve (prodlužující nebo-li terminál). Zesílení v místech nasazení větví se nazývá větevním kroužkem.^{1,4}

2.1.2.4 Výhony

Výhony jsou všechny jednoleté přírůstky větví, které jsou buď postranní jako prodloužení větví, a nebo prodlužující (terminální). Kolmo (svisle) rostlým výhonům se přezdívá vlky. Kromě těch mohou výjimečně vznikat i trny, které vznikají v důsledku nedostatečného vyvinutí terminálního pupenu výhonu a ten tak končí špičkou. Nejkratším výhonem jsou listové růžice na krátkém brachyblastu. Nově vzniklým výhonům s listy se říká letorosty, kterým v paždích

listů vznikají očka. Ta se po opadu listů nazývají pupeny, ze kterých později mohou vznikat další růstové osy koruny nebo květy.^{1,4}

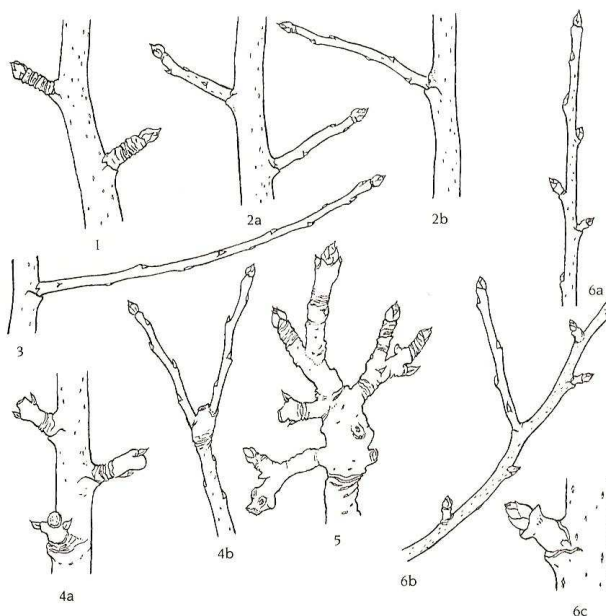
2.1.2.5 Pupeny

Pupeny se v základní rovině rozdělují na květní a listové, ale kromě nich se popisují i další (spící, adventivní a vedlejší).

2.1.2.6 Plodonosné útvary

Plodonosné útvary jsou výhony, na kterých vznikají květní, popřípadě oba druhy pupenů. Základními útvary jsou: kroužkovité trny, plodné trny, plodné pruty, plodonoše a rozvětvené dřevo.

Nejčastějším útvarem je kroužkovitý trn.^{1,4}



Obrázek 3: Druhy plodonosného dřeva jabloně¹:

1-kroužkové trny, 2-plodné trny: a-krátké, b-delší, 3-plodný prut (proutek), 4-plodonoše: a-s listovými pupeny, b-s delšími výhony, 5-rozvětvené plodonosné dřevo, 6a, b-jednoleté výhony s postranními květními pupeny nebo trnci (6c-detail trnce)

2.1.2.7 Listy

Listy vyrůstají z listových pupenů. Každá odrůda má svůj typický celkový vzhled jako jsou různé tvary čepelí, řapíků, případně palístků.

2.1.2.8 Květy

Květy se u jabloní vytvářejí z květních pupenů, z každého jich vyrůstá většinou 2 až 8. Každý květ má většinou 5 korunních plátků, 5 kališních lístků, 5 pestíků a 20 tyčinek, které bývají na bázi srostlé v trubku – semeník,

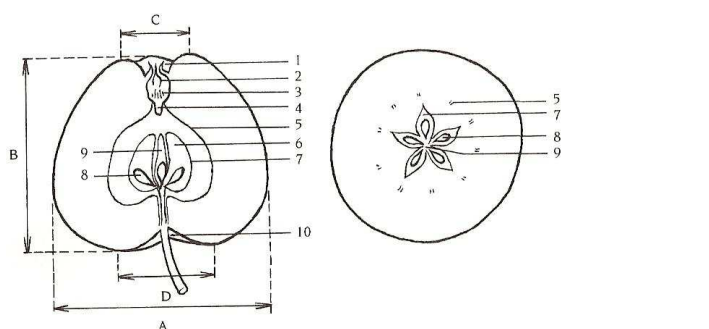
z nějž a z části kalicha později vyrůstá plod. Pěstované odrůdy jabloní jsou cizosprašné, většinou diploidní ($2n = 34$ chromozómů), některé jsou triploidní ($3n = 51$ chromozómů). Pro zajištění dobré plodnosti je proto nutné vysazovat vždy spolu vzájemně se oplodňující odrůdy, k jedné triploidní alespoň dvě diploidní odrůdy.^{1,4}

2.1.2.9 Plody

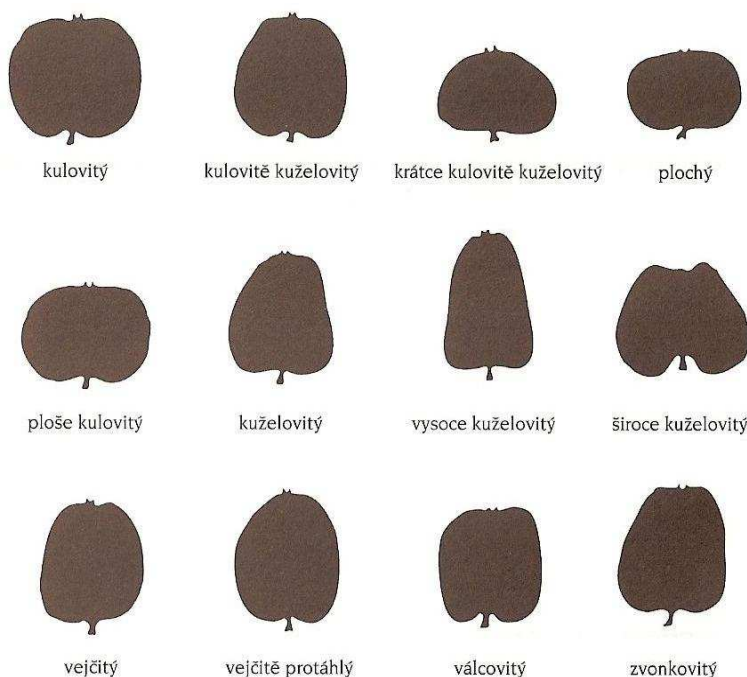
Plody jabloní jsou malvice – jablka. Zpravidla se vytváří pětipouzderná komora semeníku z mezokarpu (jádřínc), v každé části bývají 1 až 2 semena. Mezokarp je dužnatý, má různé

chuťové vlastnosti i stupně jakosti. Exokarp tvoří různě vybarvenou slupku s lenticelami (ale i bez nich).^{1,4}

Tvar plodů je poměrně stálým a typickým znakem pro každou odrůdu, který může pěstitel v menší míře ovlivnit (viz Obrázek 5: Hlavní tvary jablek). Více ovlivnitelná je velikost plodu, která je jedním z rozhodujících faktorů koupi v komerčním prodeji.



Obrázek 4: Podélný a příčný řez jablkem¹: A-šířka plodu, B-výška plodu, C-šířka kališní jamky, D-šířka stopečné jamky, 1-kališní jamka, 2-úšty kalichu, 3-podkališní jamka, 4-podkališní rourka, 5-cévní svazky, 6-jádřínc, 7-pouzdro (komora), 8-semeno (jádro), 9-osní dutina, 10-stopečná jamka



Obrázek 5: Hlavní tvary jablek¹

2.1.3 Faktory ovlivňující pěstování jabloní

Jabloně jsou početně nejvíce pěstovanou ovocnou dřevinou na našem území.⁵⁸ Pro jejich výsadbu je vhodná většina území České republiky, ale v závislosti na poloze, nadmořské výšce a dalších faktorech se odlišují i vlastnosti plodů. Jablka vypěstovaná v nižších polohách obsahují více sacharidů, dříve dozrávají a jsou méně trvanlivá než jablka vypěstovaná v podhůří, která bývají aromatictější, déle dozrávají a jsou trvanlivější.¹³ Existují však odrůdy, které patří mezi náročnější na podmínky pěstování (teplota, závlaha,...) a hůře snášejí podmínky ve vyšších polohách a jsou tudíž pro tyto polohy méně vhodné (např. Jonagold).

Z hlediska délky pěstování se jabloně řadí mezi dlouhodobé kultury, střední doba životnosti se v současné době uvádí mezi 15 až 30 lety. Později začínají jabloně chřadnout, méně plodí, jsou více náchylné chorobám atd.

Mezi faktory ovlivňující požadavky jabloní na jejich stanoviště patří nadmořská výška a vlastnosti terénu, světelné a tepelné podmínky, čistota ovzduší, vzdušná vlhkost a voda – závlaha celkově a půdní podmínky.

2.1.3.1 Nadmořská výška

Nadmořská výška je jedním z hlavních ovlivňujících faktorů. Pro pěstování se uvádějí jako nejvhodnější oblasti mezi 200 až 500 metry nadmořské výšky, ale možné je i pěstování ve vyšších polohách. Pěstitelé by však neměli zapomínat, že s každými přibývajícimi 100 metry výšky klesá průměrná roční teplota o 0,6 až 0,8 °C, ale naopak se zvyšuje množství srážek o průměrně 55 mm ročně. S přibývající nadmořskou výškou se tedy zlepšuje půdní závlahový systém a stoupá vzdušná vlhkost, ale v důsledku vyšších srážek, a tedy i vyšší oblačnosti, klesá celkové množství slunečního záření a zkracuje se vegetační doba, což vyhovuje pouze některým odrůdám.^{1,4}

2.1.3.2 Světlo

Světlo je dalším z důležitých faktorů, především z hlediska asimilace, ale i dalších pochodů rostlin. Jabloně se obecně řadí k rostlinám světlomilným.

Intenzita světla, resp. slunečního záření, ovlivňuje vytváření výhonů, květních pupenů, vybarvování plodů atd. Nedostatek světla způsobuje „vytahování se“ dřeva za světlem, výhony jsou proto dlouhé a slabé, dochází k dřívějšímu odumírání plodného dřeva a i k menší plodnosti, plody se hůře vybarvují a zrají, jsou menší a také náchylnější k chorobám a škůdcům. To můžeme ovlivnit jak sponem ve výsadbě a výsadbou řad ve směru sever – jih, tak volbou orientace svahů, na kterých jabloně vysazujeme.^{1,4}

Důležitý je také pravidelný řez jabloní – zimní a letní. Zimní řez provádíme v období předjaří (únor) a končíme nejdéle zpravidla v době rašení pupenů (duben). Cílem zimního řezu je zpravidla prosvětlení stromu, úprava stromu do pěstovaného tvaru, zmlazení dřeva a podpora tvoření plodonosného dřeva. Řez letní se provádí většinou v období od června do srpna, stromky jsou, především v intenzivních výsadbách, zbavovány silných nových výhonů, zkracovány jsou i větve dosahující až k zemi a větve, které by příliš překážely v řadách při průjezdu (traktorům).

2.1.3.3 Teplota

Teplota, stejně jako světlo, ve velké míře závisí na zvolené oblasti pěstování a nadmořské výšce. Jabloně nepatří k rostlinám příliš náročným, ale i tak se vyskytují rozdíly mezi jednotlivými pěstovanými odrůdami. Průměrná roční teplota se u jabloní pohybuje mezi 6,5 až 9 °C. Při nižších teplotách lze pěstovat jen velmi omezené množství odrůd jabloní, při vyšších naopak pěstitel musí dbát na dostatečný přísun závlahy a počítat s tím, že plody budou předčasně vyzrávat. S teplotou souvisí i důležitá odolnost jabloní proti nízkým teplotám. Z hlediska budoucí sklizně je pro pěstitele důležité období jarních mrazíků. Ty mohou poškozovat květní pupeny, což následně vede ke snížení celkového množství sklizených plodů.^{1,4}

2.1.3.4 Vzduch

Vzduch společně se světlem ovlivňuje procesy jako je asimilace, dýchání a další. Kromě CO₂ a O₂, které jabloně ze vzduchu využívají (stejně jako další zelené rostliny), může vzduch obsahovat další exhaláty, které negativně ovlivňují

růst nebo plodnost. Jsou to především oxid siřičitý (SO_2), sirovodík (H_2S), sirouhlík (CS_2), oxidy dusíku (NO_x), chlor (Cl_2), fluor (F_2) a další, z pevných látek se jedná především o těžké kovy a popílek, který při v případě pokrytí listů zabraňuje fotosyntéze.^{1,4}

Důležitý je i vítr (pohyb vzduchu), který ovlivňuje např. půdní výpar či transpiraci rostlin. Při silných větrech může docházet k vývrátům nebo jiným poškozením částí rostlin jako je vylámaní roubů, jednoletých výhonů nebo rozlámání celých korun u starších stromů. Při nedostatečném proudění dochází k častějšímu rozmnožování chorob (hořká skvrnitost, strupovitost, různé hniloby) nebo škůdců (květopas jabloňový, pilatka jablečná, obaleč jablečný, vlnatka (mšice) krvavá aj.).^{1,4}

2.1.3.5 Voda

Voda a obsah jejích par ve vzduchu je pro všechny rostliny včetně stromů nepostradatelným faktorem. Tvoří prostředí pro většinu procesů, které v nich probíhají, např. rozpouští minerální látky a umožňuje jejich transport do jednotlivých rostlinných pletiv, udržuje rostlinná pletiva v ideálním napětí (turgoru), slouží jako regulátor teploty a také ovlivňuje vlastnosti půdy. Stav vody na vysazovaných stanovištích ovlivňuje výška hladiny podzemní vody a především množství srážek. Doporučovaná hladina podzemní vody by měla dosahovat maximálně 80 cm. Při vyšších hladinách dochází k zamokření půdy, což negativně ovlivňuje celkový růst stromů i přírůstků atd. Stejně tak se projevuje i nedostatek vláhy.^{1,4}

Množství srážek představuje kromě deště i sních, částečně i rosa a kroupy, kterých se pěstitelé nejvíce obávají. Ideální roční množství srážek by se mělo pohybovat v rozmezí 500 až 600 mm. Ze všech srážek má pozitivní vliv kromě deště i sních, rosa a případně i mlha, která příznivě ovlivňuje především podzimní zrání plodů. V oblastech s častým výskytem krupobití by mělo být od velkoplošných výsadeb upouštěno (např. pokud dojde ke krupobití v období růstu plodů, dochází k jejich nenávratnému poškození).⁴

Nejvíce závlahy potřebují jabloně v období květu, růstu letorostů a kořenů (jaro) a v období maximálního narůstání plodů a diferenciaci květních pupenů.

Jak již bylo výše řečeno, podzimní zrání příznivě ovlivňuje přítomnost rosy a mlh, ale vysoký celkový obsah vody je naopak nežádoucí.⁴

2.1.3.6 Půda

Půda, jako nutná součást životního prostředí pro pěstování jabloní, patří k velmi důležitým faktorům, jejíž vliv je dlouhodobý. Na rozdíl od mělce kořenících rostlin (např. jednoletých), pro které je důležitá především kvalita ornice, jsou obecně pro všechny ovocné stromy, včetně jabloní, důležité i vrstvy pod ornici. Nejvhodnější je zakládat výsadbu a pěstovat jabloně na lehkých až středně těžkých půdách, kde se jabloně předtím nepěstovaly. Mezi vlastnosti půdy rozhodujících o vhodnosti stanoviště pro pěstování jabloní je důležitá především přirozená úrodnost půdy. Ta by měla být po celou dobu trvání výsadby udržována a může být zlepšována aplikací hnojiv. Způsoby aplikace a velikost dávky hnojiv závisí na znalosti půdních podmínek – nejdůležitější je hodnota půdní reakce (v ideálním rozmezí 6,0 až 8,0), která ovlivňuje nejen procesy v rostlinách, ale i další vlastnosti, mezi které patří např. rozpustnost potřebných minerálních a organických látek, mikrobiální činnost aj. U nových výsadeb je využíváno tzv. zásobní hnojení, při kterém se hnojiva aplikují ještě před založením výsadby a potřebné živiny se tak uvolňují postupně. U starších výsadeb je v současné době nepostradatelná aplikace vápníku, kterou se zvyšuje nízký obsah vápníku v plodech, a další foliární (mimokořenové) aplikace např. hořčíku.^{1,4,31}

Další potřebnou vlastností půdy pro pěstování jabloní je schopnost vázat vodu, které stromy potřebují poměrně velké množství. Lepší schopnost vázat vodu mají půdy humózní, méně humózní až písčité půdy vysychají rychleji, naopak půdy jílovité obsahují vody příliš mnoho a pro pěstování jabloní jsou nejméně vhodné. Kombinace nadměrného obsahu vody a nevhodného druhu půdy často vede k nedostatku kyslíku v půdě, který rostliny potřebují, což se projevuje špatným růstem a předčasným odumíráním stromů.^{1,4}

2.1.3.7 Konkrétní podmínky zkoumaných odrůd jabloní

Zkoumané odrůdy jabloní (viz kapitola 2.1.4) byly vysazeny v sadě v katastrálním území obce Pěňčín (okres Liberec, kraj Liberecký) nedaleko města Turnova v letech 1993 až 1995. Ve Střížovicích (310 m n. m.), které jsou osadou spadající pod obec Pěňčín (260 m n. m.), se nalézá Výzkumná stanice Ústavu experimentální botaniky Akademie věd České republiky. Z toho usuzuji, že se v obou lokalitách bude jednat o podobné, ne-li stejné podmínky dlouhodobých měření, tj. průměrná roční teplota 7,7 °C, roční doba svitu 1752 hodin a roční úhrn srážek 680 mm.¹³

Samotný sad se nachází na okraji Pěňčína směrem na Vitanovice, ze tří stran je obklopen ornou půdou nebo sady, na čtvrté straně přiléhá k zahradě a silnici u domu č. p. 120 (zřetelně částečně viz Příloha č. 2). Celkový terén sadu je rovinný, s nepatrným sklonem k jihovýchodu, poměrně stálým mírným prouděním vzduchu a dobrou hladinou podzemní vody. U všech stromů (rozmístění jednotlivých odrůd viz Příloha č. 1) je pravidelně na jaře a v létě prováděn řez (viz 2.1.3.2) a také travnatý porost je pravidelně několikrát do roka sekán – drcen (drť slouží jako zelené hnojivo). Dále jsou v sadě prováděny postřiky – proti škůdcům a hnojení na list (foliární).

2.1.4 Zkoumané odrůdy jabloní

V současné době existuje velké množství nových odrůd jabloní, které se zařazují do kulturní odrůdy *Malus x domestica*. Mezi nejznámější ústavy zabývající se šlechtěním nových odrůd jabloní patří v České republice Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský v Holovousích (dále jen VŠÚO Holovousy) a Výzkumná stanice Ústavu experimentální botaniky Akademie věd České republiky ve Střížovicích (dále jen Výzkumná stanice ÚEB AV ČR Střížovice). Jejich úkolem není však jen vyvíjet nové šlechtěné odrůdy, ale naopak se snaží i o zachování genofondu starých odrůd, které se dříve na našem území pěstovaly a jejichž některé vlastnosti se využívají i při šlechtění odrůd nových.

Všechny zkoumané odrůdy jsou registrovány ve Státní odrůdové knize, která nahradila předchozí Listinu povolených odrůd.⁵⁶

2.1.4.1 *Bohemia*



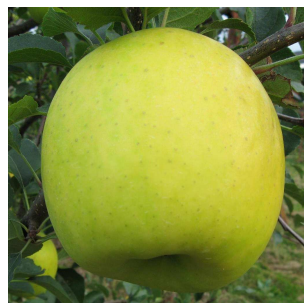
Obrázek 6: *Bohemia*

Tato odrůda byla objevena jako náhodná pupenová mutace odrůdy Rubín panem Josefem Thořem z Pěnčína již v roce 1984, je právně chráněná a od roku 1994 registrovaná a povolená k množení.

Růst je bujnější, vytváří kulovitou středně hustou nepravidelnou korunu, větve mají sklon k vyholování, a proto potřebuje speciální řez (stejně tak jako Rubín).

Plodí na tzv. dlouhém dřevě, plody vyrůstají z květních vrcholových pupenů na středně dlouhých až delších vidlicích. Zpočátku plodí méně, později je ale plodnost pravidelná a vysoká.

Plody mají rozmytou jasně červenou krycí barvu (viz Obrázek 6: *Bohemia*), slupka je jinak tenká, suchá a hladká, někdy se rzivými lenticelami. Její barevnou mutací je odrůda Gold *Bohemia*, které krycí barva slupky chybí (viz Obrázek 7: *Gold Bohemia*). Dužina je krémové barvy, jemná, sladká, chruplavá a hodně šťavnatá, ale pevnější struktury po celou dobu skladování, také je voňavá a aromatická. Plody dosahují hmotnosti 160 až 220 g, mají středně tlustou a dlouhou stopku, dobře snášejí manipulaci a příliš se neotlačují.



Obrázek 7: *Gold Bohemia*

Sklizňové zralosti dosahuje většinou v 2. polovině září, někdy se sklízí i později. Konzumní zralosti dosahuje v listopadu, při dobrých podmínkách uskladnění vydrží do února až března. Hodí se jak na přímý konzum, tak na konzervaci, sušení i průmyslové zpracování.

Je středně odolná proti napadení houbovými chorobami, ale padlím netrpí, a proto se hodí do většiny pěstitelských oblastí.^{1,12,13,17}

2.1.4.2 *Golden Delicious*

Odrůda *Golden Delicious* původně pochází z USA, kde byla objevena jako náhodný semenáč na konci 19. století. U nás byla registrována roku 1959.



Obrázek 8: *Golden Delicious*

Její růst je středně bujný, vytváří vysoce kulovitou až vejčitou korunu se středně dlouhým plodonosným obrostem, někdy má sklon k zahušťování, a proto potřebuje letní řez.

Plodnost je středně raná, vysoká a při správném ošetřování a probírce pravidelná. Kvete středně pozdně až pozdně, dobře se opyluje a sama je dobrým opylovačem.

Plody jsou středně velké, obvykle ale jejich velikost kolísá v závislosti na zdravotním stavu stromů a násadě na plod. Má vysoce kulovitý až kulovitý tvar s méně zřetelným žebrováním. Slupka je hladká, suchá, matně lesklá se rzivými lenticelami (někdy se může vyskytnout i se rzivým mramorováním). Základní barva je zelenožlutá (viz Obrázek 8: *Golden Delicious*, Obrázek 9: *Golden Delicious*), v době konzumní zralosti se mění na žlutou, někdy má i nevýrazné narůžovělé až oranžové líčko. Dužina je žlutavá, středně šťavnatá, jemná, ale pevná. Chutná sladce, je příjemně aromatická. Plody dosahují hmotnosti mezi 115 až 200 g, mají středně dlouhou až dlouhou slupku, bohužel se občas otláčují.

Sklizňové zralosti dosahuje v závislosti na poloze, v teplých oblastech se může sklízet již od poloviny září, ve středních polohách od začátku do poloviny října. Konzumní zralost plodů nastává přibližně od listopadu nebo i začátkem prosince, při dobrém uskladnění vydrží do března až dubna (především závisí na vlhkosti, při nízké hodně vadne). Je vhodná pro přímý konzum, konzervaci, sušení i průmyslové zpracování.



Obrázek 9: *Golden Delicious*

Je středně odolná proti padlí, avšak její velkou nevýhodou je vysoká citlivost na strupovitost (vyžaduje chemickou ochranu) a také vysoké nároky na výběr stanoviště a polohy.^{1,4,8,9,12,13,22}

2.1.4.3 *Idared*

Odrůda byla vyšlechtěna v USA ve 30. letech 20. století záměrným křížením odrůd Wagnerovo x Jonathan a registrována byla v roce 1970.



Obrázek 10: *Idared*

Růst je zpočátku silný, později slábne, vytváří poměrně hustou kulovitou až zploštěle kulovitou korunu. Větve jsou po nástupu plodnosti převíslé, s krátkými plodonoši. Plodnost je raná, vysoká a pravidelná. Kvete také raně a je dobrým opylovačem.

Plody jsou středně velké až větší (150 až 210 g), tvarem kulovité až ploše kulovité. Slupka je hladká, lesklá, jen slabě matná, tlustá a tuhá. Základní barva je zelenožlutá, ale bývá z velké části překryta jasně červenou rozmytou barvou - líčkem (viz *Obrázek 10: Idared*, *Obrázek 11: Idared*). Dužina je bílá až slabě krémová, jemná, křehká a středně šťavnatá. Chuť je sladce navinulá, jemně aromatická, obvykle dobrá až velmi dobrá. Stopku má tenkou a krátkou.

Sklizňové zralosti dosahuje v první a druhé dekádě října, plody jsou konzumně zralé v prosinci a při dobrém uskladnění vydrží až do jarních měsíců (května), přičemž netrpí skládkovými chorobami. Je vhodná pro přímý konzum, konzervaci a průmyslové zpracování.



Obrázek 11: *Idared*

Mezi přednosti patří raná a vysoká plodnost, pěkný vzhled plodů. Pro pěstování je vhodná do všech oblastí. Na druhou stranu ale patří mezi odrůdy náročné na chemické ošetření především proti padlí a strupovitosti, projevuje větší citlivost na mráz a při horších podmínkách je docíleno pouze průměrné chuti.^{1,4,,9,12,13,23}

2.1.4.4 James Grieve

Odrůda James Grieve vznikla v 19. století ve Skotsku volným sprášením odrůdy Pottovo s Coxovou renetou. Registrována je od roku 1954 a jeho červená mutace od roku 1970.

Růst je především zpočátku středně silný, po nástupu plodnosti postupně ustává. Vytváří kulovitou korunu zahuštěnou krátkými plodonosným obrostem. Plodnost je velmi raná, vysoká a pravidelná. Kvete středně raně a patří mezi nejlepší opylovače.

Plody jsou středně velké až velké (140 až 180 g) kulovitého nebo kuželovitého tvaru, někdy nepravidelně žebernaté. Stopku mají středně dlouhou, silnější a na konci ztlustlou. Slupka je hladká, lesklá, v době konzumní zralosti mastná. Základní barva je žlutá s oranžovým či světle červeným žíhaným až rozmytým líčkem (viz Obrázek 12: James Grieve). Dužina je



Obrázek 12: James Grieve

zelenavě bělavá až krémová, jemná, křehká a velmi šťavnatá. Chuť plodů je sladce navinulá až mírně nakyslá, aromatická a celkově velmi dobrá.

Sklizňová zralost nastává koncem srpna, případně začátkem září, vhodné je česat probírkou. Konzumní zralosti dosahuje nejpozději do 2 týdnů po sklizňové a vydrží až do října. Hodí se především pro přímý konzum, ale z důvodu snadného otlaku plodů se nedoporučuje jakákoli vzdálenější přeprava.

Předností této odrůdy je vysoká a pravidelná plodnost, pěkný vzhled a dobré chuťové vlastnosti plodů. Na druhou stranu potřebuje chemickou ochranu, protože středně až silněji trpí padlím a strupovitostí. Na nechráněných stanovištích je také citlivější na výskyt rakoviny a moniliózy.^{1,4,8,9,12}

2.1.4.5 Jonagored

Odrůda byla vyšlechtěna v Belgii řízenou mutací odrůdy Jonagold, registrovaná je od roku 2000.



Obrázek 13: Jonagored

Růst je především zpočátku bujný, později střední. Vytváří kulovité až převislé koruny s dlouhými letorosty. Plodí na krátkém dřevě.

Plodnost je středně raná, vysoká a při probírce pravidelná.

Plody jsou středně velké, s probírkou větší (180 až 200 g). Tvar mají kulovitě kuželovitý se středně dlouhou, středně tlustou zahnutou stopkou. Slupka je středně silná, hladká a suchá, v období konzumní zralosti je částečně mastná. Základní barva je zelenavá, krycí je červená až purpurová s mramorováním nebo ve formě rozmytého žlhaní (viz Obrázek 13: Jonagored, Obrázek 14: Jonagored). Dužina je bílé až krémové barvy, velmi šťavnatá, křehká a nasládlá.

Sklizňová zralost nastává začátkem října, plody jsou konzumně vyztřelé od prosince, při dobrých podmínkách se dají skladovat do února, někdy i března.

Je vhodnější pro pěstování v teplejších a chráněných oblastech, vyžaduje chemické ošetření (náchylná k houbovým chorobám) a prosvětlovací letní řez.^{12,25}



Obrázek 14: Jonagored

2.1.4.6 Melodie



Obrázek 15: Melodie - trs plodů

Byla vyšlechtěna panem Ottem Loudem ze Střížovic záměrným křížením odrůdy Šampion x OR-T-16, který byl vyselektován v potomstvu *Malus floribunda* jako donor rezistence

proti strupovitosti. Je právně chráněná, registrovaná v roce 1991.

Roste středně bujně, později v plodnosti slaběji, vytváří kulovitou až kuželovitou korunu dobře obrostlou krátkým plodným dřevem. Letorosty jsou delší, středně silné. V plné plodnosti je potřeba zajistit řezem a výživou dostatek mladého dřeva, aby nedocházelo k alternaci plodnosti (střídavá).

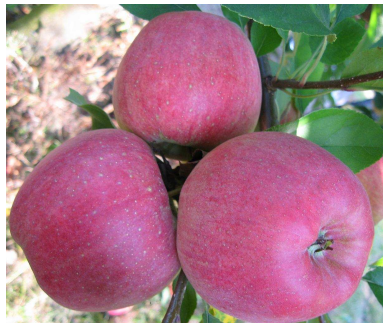
Plodnost je raná, vysoká, při pravidelné probírce vysoká, bez probírky se plody vzájemně vytlačují (viz *Obrázek 15: Melodie - trs plodů*).

Plody jsou střední až větší (v průměru asi 170 g v oblasti Turnovska a Jičínska). Mají kulovitě kuželovitý až široce kuželovitý tvar se slabou žebernatostí. Stopka bývá tenká, pružná a přesahující stopečnou jamku. Slupka je hladká, středně tlustá a suchá. Základní zelenožlutá barva je většinou více než ze $\frac{2}{3}$ překrytá červeným



Obrázek 16: Melodie

až fialovým rozmytým líčkem, někdy i s žíháním (viz *Obrázek 16: Melodie*, *Obrázek 17: Melodie*). Dužnina je bílá, jemná a chruplavá, navinulé až nakyslé chuti, velmi šťavnatá a osvěžující. Bohužel se snadno otlačují.



Obrázek 17: Melodie

Sklizňové zralosti plodů je dosaženo většinou koncem září, konzumně dozrávají v prosinci. Hodí pro přímý konzum, konzervaci, sušení i průmyslové zpracování. Při dobrých podmínkách skladování vydrží až do března (dubna), za dodržení dostatečné vlhkosti, jinak vadnou a vysychají.

Mezi její největší výhody patří rezistence proti strupovitosti a také střední odolnost vůči padlí. Dužnina navíc obsahuje i poměrně vysoký obsah vitamínu C. Je prokázáno, že při pěstování ve vyšších polohách mají plody nižší obsah cukrů, ale obsahují více kyselin.^{1,12,13,26}

2.1.4.7 Melrose

Tato odrůda byla vyšlechtěna v USA křížením odrůd Jonathan x Red Delicious, registrována byla v roce 1986.

Růst je zpočátku bujný, později střední, vytváří kulovitou až široce rozloženou korunu. Typické jsou delší a tenčí výhony. Kvete pozdně a násada květů je většinou podprůměrná (přestože se jedná o diploidní odrůdu).

Do období plodnosti vstupuje poměrně pozdě, plodnost je střední, ale pravidelná.

Aby bylo dosaženo dobré plodnosti, vyžaduje teplejší klimatické podmínky.

Plody jsou velké až nadprůměrně velké (hmotnost cca 140 až 220 g), tvarem tupě kuželovité nebo kulovité s žebry. Slupka je hladká, středně tlustá, suchá. Základní barva je zelená nebo zelenožlutá, překrytá mdle tmavě červenou, při vyzrání zářivě tmavě červenou krycí barvou (viz *Obrázek 18: Melrose*, *Obrázek 19: Melrose*). Často se jedná o rozmytou nebo žíhanou formu líčka. Dužina je krémově bílá, středně zrnitá, šťavnatá, sladce navinulá a mírně aromatická.



Obrázek 18: Melrose



Obrázek 19: Melrose

Sklizňové zralosti dosahuje v první polovině října, konzumní zralost nastává v lednu a vydrží až do dubna (května). Je vhodná pro přímý konzum i průmyslové zpracování.

Patří mezi dobře skladovatelné odrůdy, skládkovými chorobami netrpí. Je poměrně dobře odolná proti strupovitosti, proti padlí je odolná středně. Při pěstování v současných nízkých tvarech vyžaduje použití zakrslých podnoží.^{1,4,9,12,13}

2.1.4.8 Šampion

Odrůda Šampion byla vyšlechtěna panem Ottem Loudem ze Střížovic záměrným křížením odrůd Golden Delicious x Coxova reneta. Registrována byla v roce 1977.

Růst je středně bujný, později slabší. Vytváří pravidelně kulovitou korunu, později mírně rozložitou, která velmi dobře obrůstá. Plodí na krátkém větveném plodonosném dřevě. Patří mezi odrůdy kvetoucí středně raně a poměrně dlouho. Je odrůdou, která se sama dobře opyluje a zároveň je také velmi dobrým opylovačem.

Plodnost je velmi brzká, vysoká a pravidelná, v průběhu sklizně je vhodné provádět probírku.



Obrázek 21: Šampion

Plody jsou velké, tvarem kulovité až kuželovitě kulovité, směrem ke kalichu mírně zúžené. Stopku mají tenkou a středně dlouhou. Slupka je hladká, suchá až slabě mastná, jemná, středně tlustá. Základní zelenožlutá barva je z velké části plodu překryta převážně jasně červeným žíhaným líčkem (viz Obrázek 20: Šampion, Obrázek 21: Šampion, Obrázek 22: Šampion). Dužina je krémová až žlutavě bílá, poměrně hodně šťavnatá, chruplavá, sladce navinulá a aromatická.

Sklizňové zralosti dosahuje koncem září, začátkem října, zpravidla 1 až 2 týdny před odrůdou Golden Delicious. Konzumně dozrává v listopadu, při dobrých skladovacích podmínkách vydrží do února, v řízené atmosféře až do května. Je vhodný pro přímý konzum, konzervaci, sušení i k průmyslovému zpracování. Netrpí skládkovými chorobami.



Obrázek 22: Šampion

Je odrůdou vysoce odolnou proti padlí, špatně odolává strupovitosti. Celkově se jedná o odrůdu vhodnou do všech pěstitelských oblastí.^{1,4,9,12,13,53}

2.1.4.9 Topaz

Tato odrůda byla vyšlechtěna pod označením ÚEB-2359/2 ve Výzkumné stanici ÚEB AV ČR Střížovice křížením odrůdu Rubín x Vanda. Byla registrována v roce 1997 a je právně chráněná.



Obrázek 23: Topaz

Růst je zpočátku velmi bujný, později středně bujný. Koruna je vejčitá až oválná. Rozvětvené větve dobře obrůstají kratším plodonosným dřevem. Kvete středně pozdě a je dobrým opylovačem.

Plodnost je brzká, vysoká a pravidelná.

Plody jsou středně velké, kulovité až ploše kulovité, někdy v kališní části žebnaté. Stopku mají středně tlustou a krátkou. Slupka je hladká, tenká, slabě až středně mastná. Základní žlutá barva je překryta oranžově červeným žíháním nebo mramorováním (viz Obrázek 23: Topaz, Obrázek 24: Topaz, Obrázek 25: Topaz). Dužina je krémová až žlutavá, středně zrnitá, pevná, chruplavá a poměrně šťavnatá. Chuť je sladce navinulá a výrazně aromatická.



Obrázek 24: Topaz

Sklizňové zralosti dosahuje přibližně 1 týden před odrůdou Golden Delicious, tzn. asi začátkem října. Konzumní zralost nastává začátkem prosince a při dobrých podmínkách skladování vydrží do dubna (v chladírně). Je odrůdou vhodnou pro přímý konzum, konzervaci, sušení i k průmyslovému zpracování.



Obrázek 25: Topaz

Je rezistentní proti strupovitosti díky geneticky podmíněnému faktoru Vf (z Vandy), také je odolná proti padlí. Mezi nevýhody pěstování této odrůdy patří její náročnost na letní řez a osluněné chladnější stanoviště kvůli sklizňovému vybarvení plodů. Doporučuje se pro pěstování do teplých a středně teplých oblastí.^{1,12,13,54}

2.2 SLOŽENÍ JABLEK

Jablka jako součást jídelníčku jsou cenným zdrojem nejrůznějších látek působících pozitivně na lidský organismus. Kromě vody obsahují sacharidy, vlákninu, minerální látky, vitamíny atd. V jablkách se tyto látky vyskytují v biologicky ideální formě, a proto je můžeme konzumovat v syrové formě. Kromě toho, že jsou pro nás lehce stravitelné, je známo, že v lidském organismu příznivě ovlivňují celou řadu procesů např. v trávicím traktu, působí na obranyschopnost organismu i na nervovou soustavu a povzbuzují chuť k jídlu. Je také prokázáno, že pravidelná konzumace 2 až 3 jablek denně pomáhá regulovat množství cholesterolu v krvi, díky kterému dochází ke vzniku aterosklerózy (kornatění tepen) a např. infarktu myokardu. Navíc je jejich kalorická hodnota nízká (125 až 210 kJ na 100 g váhy). Proto se doporučují při různých redukčních dietách a léčbě některých onemocnění (průjemy, žaludeční vředy atd.).¹

Chemické složení jablek je velmi různé a liší se nejen od odrůdy k odrůdě, ale také i v rámci jednotlivých odrůd v závislosti na pěstitelských podmínkách jako je klima v rámci pěstované oblasti, typy půdy, zvolené podnože, hnojení a celková péče o zdraví stromů atd. Kromě těchto podmínek závisí dále na míře vyzrálости plodů, jejich velikosti a způsobu uskladnění.

2.2.1 Sacharidy

Sacharidy, někdy též zvané nepřesně cukry^I nebo starším názvem uhlohydráty či karbohydráty^{II}, jsou základní složkou všech živých organismů a také jsou největší skupinou opticky aktivních molekul.

^I Nesprávné označení cukry je používáno jako souhrnný název pro monosacharidy a oligosacharidy, což jsou sacharidy mající sladkou chuť, proto název cukry. Někdy je označením cukr míněna pouze sacharóza.

^{II} Uhlohydráty či karbohydráty byly používány dříve s využitím sumárního vzorce $(C \cdot H_2O)_n$, kde $n \geq 3$, což je ale nepřesné, zavádějící, protože ne všechny látky s tímto sumárním vzorcem patří mezi sacharidy.

Sacharidy se skládají z uhlíku (C), vodíku (H) a kyslíku (O), jejich deriváty obsahují dusík (N), fosfor (P) nebo i síru (S).

Z hlediska počtu sacharidových jednotek dělíme sacharidy na monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy.

Monosacharidy jsou chemicky aldehydové (odtud aldózy) nebo ketonové (odtud ketózy) deriváty polyhydroxyalkoholů s nevětveným řetězcem a se třemi až devíti atomy uhlíku, podle čehož je pak nazýváme triózy, tetrózy, pentózy, hexózy, heptózy atd.¹⁴

Oligosacharidy vznikají spojením dvou až deseti monosacharidových jednotek. V přírodě se nejvíce vyskytují disacharidy, z nichž je nejznámější asi sacharóza a trisacharidy.¹⁴

U polysacharidů dochází ke spojení velkého počtu monosacharidových jednotek, často fungují jako základ struktury. Pro živočichy má největší význam glykogen, u rostlin celulóza a škrob.¹⁵

Strukturu sacharidů můžeme obecně zapisovat různými vzorci, nejjednodušší je Fischerova projekce, následována Tollensovou a nejsložitější je Haworthova. Sacharidy se ve skutečnosti však většinou nevyskytují v lineární formě tak, jak ji zobrazuje Fischerova projekce. V naprosté většině dochází k tzv. vnitřní cyklizaci, při které jedna ze vzdálenějších skupin reaguje s aldehydickou nebo ketonovou skupinou na chirálním uhlíku za vzniku hemiacetálové nebo hemiketálové formy monosacharidu, která se znázorňuje Haworthovou projekcí.

Sacharidy obsažené v jablkách mají, hned po vodě, největší zastoupení z veškerých látek. Celkový obsah sacharidů se uvádí mezi 10 až 15 %.¹ Z počátku je nejvíce zastoupen škrob, který se v průběhu procesu zrání mění na cukry. Nejvíce zastoupená je fruktóza (6,5 až 11,8 %), následovaná glukózou (2,5 až 5,5 %) a sacharózou (1,5 až 5,3 %).^{1,3}

Ani výsledná sladkost plodů není určována jen obsahem sacharidů, ale závisí především na celkovém poměru sacharidů ke kyselinám.

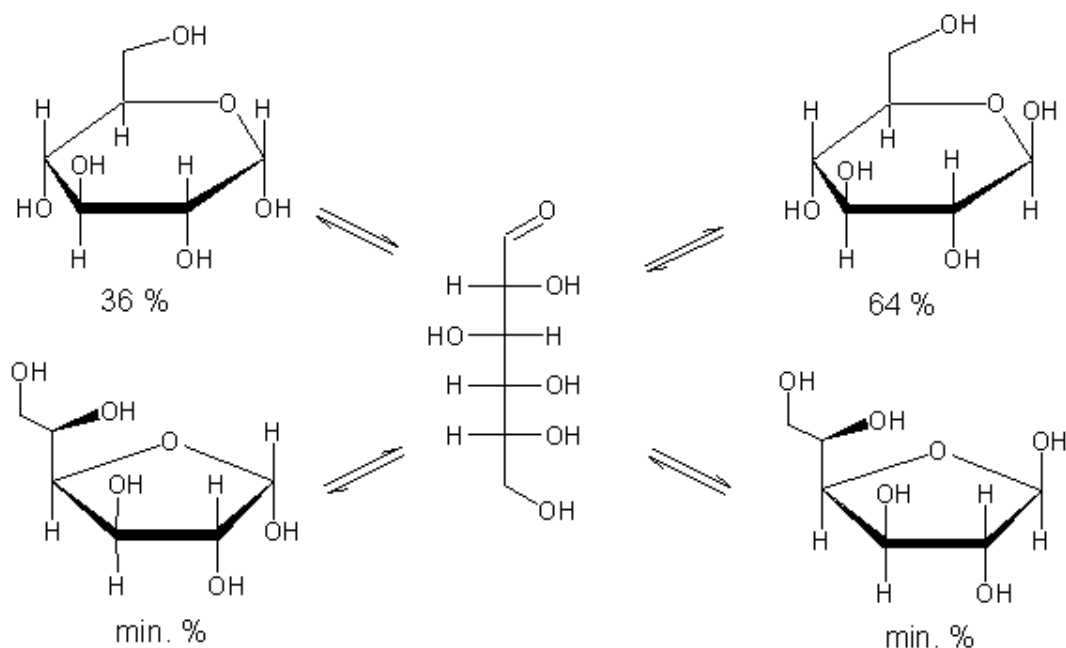
2.2.1.1 Glukóza

Glukózu neboli „hroznový cukr“ řadíme mezi monosacharidy. Přestože je její obsah v jablkách menší (2,5 až 5,5 %) než obsah fruktózy (6,5 až 11,8 %), z hlediska výživy (nejen diabetiků) má význam větší.

Sumární vzorec glukózy je $C_6H_{12}O_6$, zařazujeme ji mezi aldohexózy, podle šesti uhlíků a funkční aldehydické skupiny.

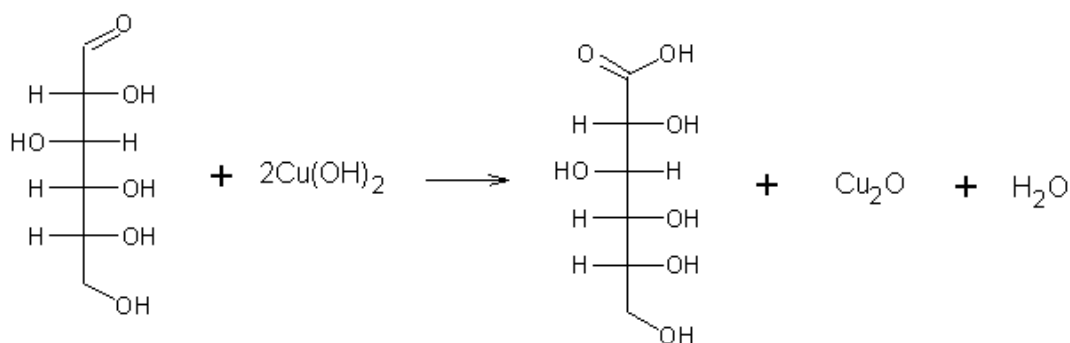
Ve skutečnosti se však glukóza nevyskytuje v lineární formě, ale dochází u ní k tzv. vnitřní cyklizaci, kdy vzniklá hemiacetálová skupina může zaujmout jednu ze dvou možných prostorových orientací a tím vzniká jeden ze dvou možných anomerů. Hemiacetálová skupina vzniká adicí jedné ze vzdálenější hydroxylových skupin na aldehydickou, dochází buď ke vzniku furanóz (mají pětičlenný kruh) nebo pyranóz (šestičlenný kruh). Podle orientace hydroxylové skupiny v cyklické formě sacharidu zobrazené Haworthovou projekcí rozlišujeme anomery na α (OH skupina pod rovinou kruhu) a β (OH skupina nad rovinou kruhu). Každý z anomerů má rozdílné fyzikální i chemické vlastnosti.

Ve skutečnosti dochází v roztocích k mutarotaci, což je jev, při kterém anomery přechází přes lineární formu z jednoho ve druhý a snaží se tak vytvořit rovnovážnou směs (viz *Obrázek 26: Rovnovážné složení roztoků D-glukózy*). Tento přechod je pak doprovázen změnou optické otáčivosti, kdy každý z anomerů ovlivňuje otáčivost jiným směrem.¹⁵



Obrázek 26: Rovnovážné složení roztoků D-glukózy¹¹

Díky již zmiňované aldehydické skupině se glukóza řadí mezi sacharidy, které mají redukční vlastnosti. Těch se využívá nejen při stanovení glukózy, ale i ostatních sacharidů. Nejtypičtější reakcí glukózy jsou oxidační reakce. Jako nejvhodnější pro tyto reakce se jeví alkalické roztoky měďnatých solí, ve kterých dochází za tepla a přítomnosti redukujících sacharidů k redukci na oxid měďný (viz *Obrázek 27: Oxidace glukózy měďnatými ionty*).



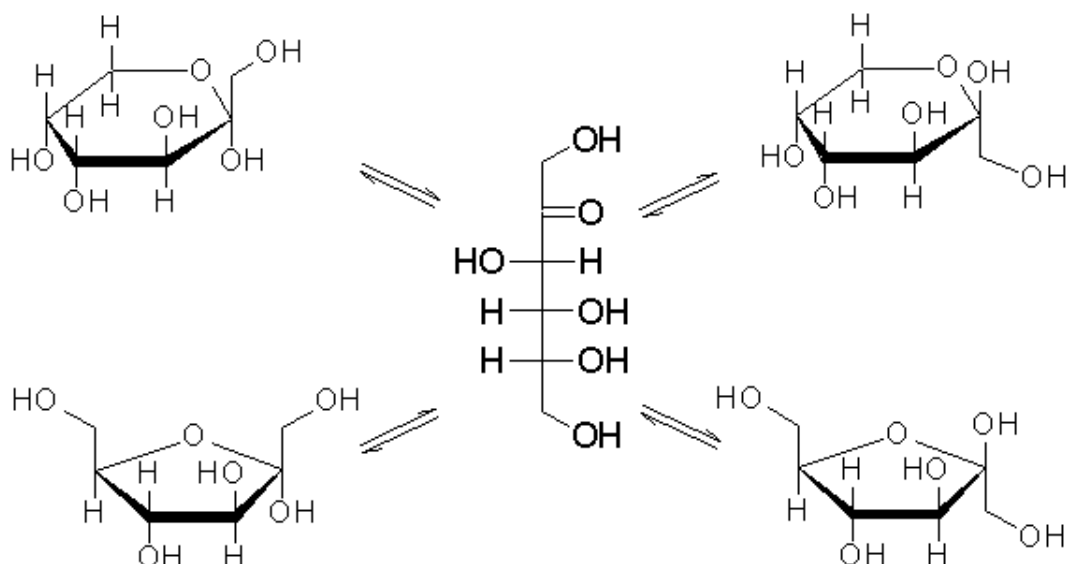
Obrázek 27: Oxidace glukózy měďnatými ionty

V pevném stavu se glukóza vyskytuje jako bílá krystalická látka sladké chuti. V přírodě se vyskytuje jak v tělech živočichů, tak v rostlinách. Pro živočichy (člověka nevyjímaje) má význam jako látka poskytující zdroj energie, v rostlinách se podílí na fotosyntéze a hromadí se v plodech.

2.2.1.2 Fruktóza

Fruktóza neboli „ovocný cukr“ je v jablkách zastoupena nejvíce. Její obsah se uvádí mezi 6,5 až 11,8 %.

Z chemického hlediska fruktózu řadíme mezi monosacharidy, z hlediska funkční skupiny a počtu uhlíků mezi ketohexózy. Stejně jako glukóza patří mezi redukující sacharidy. Na rozdíl od glukózy však vnitřní cyklizací nevzniká hemiacetálová, ale hemiketalová vazba a podobně jako u glukózy dochází ve vodných roztocích k přesmykům či úplnému zániku této vazby v roztocích (viz *Obrázek 28: Rovnovážné složení roztoků D-fruktózy*).

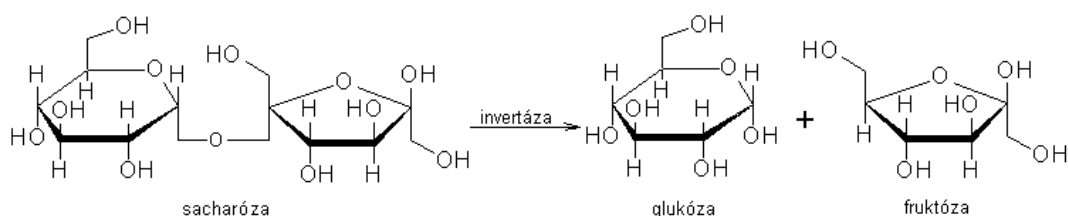


Obrázek 28: Rovnovážné složení roztoků D-fruktózy

V přírodě se fruktóza vyskytuje v medu a v ovoci a zelenině bohaté na vlákninu – jahodách, ostružinách, borůvkách, melounech, cibulích, kukuřici aj. Společně s glukózou se využívá pro výrobu tzv. glukózo-fruktózového sirupu (glukóza:fruktóza je v poměru 40:60), který se dále využívá např. jako sladidlo. V pevné formě je bílou krystalickou látkou.

2.2.1.3 Sacharóza

Sacharóza, neboli „řepný cukr“ nebo také „třtinový cukr“ či pouze cukr, je nejčastěji se vyskytujícím disacharidem. Její molekula je tvořena molekulou glukózy a molekulou fruktózy, které jsou spojené glykosidickou (acetálovou) vazbou na anomerních uhlících, a proto je sacharóza neredukujícím sacharidem. Kyselou hydrolýzou ze sacharózy vzniká ekvimolární směs glukózy a fruktózy, tzv. invertní cukr (viz Obrázek 29: Schéma hydrolýzy sacharózy).^{14,15}



Obrázek 29: Schéma hydrolýzy sacharózy

V pevném stavu je bílou krystalickou látkou a vyskytuje se v rostlinách.

2.2.1.4 Ostatní sacharidy

Ostatními sacharidy jsou myšleny především polysacharidy zastoupené škrobem v období sklizňové zralosti. V průběhu procesu dozrávání totiž škrob úplně mizí, mění se na sacharózu, která enzymaticky mění na fruktózu a tím se zvyšuje sladkost plodů. Ve zralých jablkách jsou tak sacharidy zastoupeny především fruktózou a glukózou, přezráváním však dochází ke snížení obsahu sacharidů.¹

Kromě škrobu je v jablkách obsažen pektin a celulóza. V období sklizňové zralosti obsahují jablka 1,0 až 1,8 % pektinů, jejich obsah se však zároveň s postupem zralosti snižuje na 0,2 až 0,9 %. Nejvyšší obsah pektinů mají jablka ve slupce a v jádřinci. V lidském organismu pektiny fungují tak, že na sebe v trávicím ústrojí vážou toxické látky, které se později bez problémů vyloučí z těla. Pektiny dále také příznivě ovlivňují střevní mikroflóru, procesy trávení a peristaltiku střev a mají pozitivní vliv na cholesterol v lidském těle.

Celulóza obsažená v jablkách podporuje peristaltiku střev a usnadňuje následné vyprazdňování. Obsah celulózy se pohybuje kolem 1,3 %.

2.2.2 Ostatní látky

Kromě sacharidů jsou v jablkách obsaženy další látky, které ovlivňují především vůni a chuťové vlastnosti jablek. Jde především o vodu, dále pak kyseliny, třísloviny, aromatické látky, vitamíny a minerální látky. V minimální míře jsou v jablkách obsaženy dusíkaté látky a tuky.

2.2.2.1 Voda

Voda tvoří největší část dužniny plodu, obvykle se udává množství mezi 78 až 80 %^{3,4} někde však jen mezi 78 až 86 %.¹ Obsah vody v plodu určuje šťavnatost plodů. Výťažnost šťávy z plodů ale bývá nižší, protože je část vody pevně navázána na koloidní částice plodu.^{1,3,4}

V průběhu skladování dochází ke ztrátám obsahu vody v plodech, a proto je nutné v chladárně udržovat stálou vysokou vlhkost (nad 85 %) a nízkou teplotu (2 až 4 °C).

2.2.2.2 Obsah kyselin

Mezi kyseliny obsažené v jablku patří zejména kyselina jablečná a citronová. Dále obsahují malé množství kyseliny salicylové a stopy kyseliny šťavelové.

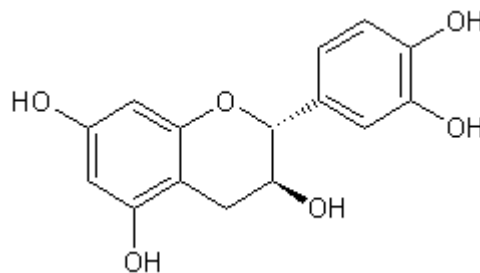
Celkový obsah kyselin je uváděn v literatuře^{1,3,4} v rozmezí 0,2 až 1,6 %. Největší podíl z veškerých kyselin má kyselina jablečná, které je v plodech obsaženo 0,19 až 1,64 %.^{3,4} Kyseliny citronové obsahují jablka méně, je uváděno rozmezí mezi 0,19 až 1,10 %.^{3,4} Obsah kyseliny salicylové je 0,00024 %.³

Ukazatel kyselosti pH se u jednotlivých odrůd liší a pohybuje se v rozmezí mezi 2,5 až 5,0.^{1,4}

2.2.2.3 Třísloviny

Třísloviny jsou ty látky, které u jablek způsobují jejich natrpklost. Přitom je prokázáno, že jich je mnohem více obsaženo v planě rostoucích odrůdách než v odrůdách kulturních. Celkový obsah tříslovin se uvádí mezi 0,02 až 3 %.¹

Třísloviny obsažené ve zralých jablkách patří převážně do skupiny katechinů, zatímco v nezralých převažuje tanin. V průběhu procesu zrání dochází ke snižování obsahu tříslovin a natrpklost je zároveň potlačována i zvyšujícím se obsahem sacharidů.



Obrázek 30: Katechin

Zároveň můžeme třísloviny označit jako látky, které způsobují hnědnutí dužiny po rozkrojení jablka.^{1,3,4}

2.2.2.4 Aromatické látky

Aromatické látky dodávají jablkům jejich typickou odrůdovou vůni. Mezi ně řadíme především estery kyselin (octové, mravenčí, kapronové), aldehydy a silice. Obsah těchto látek se mezi jednotlivými odrůdami velmi liší, můžeme ale říci, že téměř vždy je přítomen acetaldehyd (CH_3COH). Pokud ho plody obsahují větší množství, jsou nepříjemně cítit.^{1,3,4}

Do této skupiny látek se také řadí ethylen ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$), díky kterému dochází k urychlení dozrávání plodů, a proto je nutné mít dobré odvětrávání chladírny.

2.2.2.5 Vitamíny a minerální látky

Celkový obsah vitamínů a minerálních látek v jablku není velký, ale má poměrně velký význam pro lidský organismus. Důvodem je, že jablka nepotřebují teplotní úpravu před samotnou konzumací, naopak je vhodné jíst je v syrovém stavu. V syrovém stavu tedy přijímáme i vitamíny a minerální látky, které se mnohdy navíc v jablku vyskytují v téměř ideálních formách a které náš organismus umí zpracovat a následně využít.^{1,3,4}

Z veškerých vitamínů je nejvíce zastoupen vitamín C (kyselina askorbová), i když je jeho obsah velmi proměnlivý nejen mezi jednotlivými odrůdami, ale i v rámci odrůdy jedné. Odlišnosti v obsahu vitamínu C můžeme pozorovat v rámci jedné odrůdy, porovnáváme-li mezi sebou plody pěstované za různých podmínek – plody pěstované ve vyšší nadmořské výšce obsahují tohoto vitamínu více než jablka pěstovaná v nižších a teplejších oblastech. Dále také platí, že více vitamínu C obsahují plody menší velikosti než větší a nejvíce je ho umístěno ve slupce. Obecně vzato obsahují jablka 0,5 až 30 mg na 100 g dužniny vitamínu C, což je v porovnání s ostatními druhy ovoce spíše méně.

Mezi dalšími vitamíny obsaženými v jablku stojí ještě za zmínku provitamín A, vitamín B₁ a vitamín B₂.

Minerální látky obsažené v jablku jsou nejčastěji zastoupeny draslíkem, fosforem, sodíkem, vápníkem, hořčíkem a železem. Jejich celkový obsah se pohybuje v rozmezí 0,2 až 0,6 %, což je hodnota poměrně nízká. Přesto ale bývají jablka považována za dobrý zdroj těchto látek právě z toho důvodu, že se v jablkách vyskytují ve formách snadno přijatelných pro lidský organismus.^{1,3,4}

2.2.2.6 Dusíkaté látky a tuky

Obsah dusíkatých látek v jablkách je velmi malý, jen do 0,8 %. Z tohoto množství tvoří přibližně polovinu bílkoviny a druhou polovinu dusíkaté látky rozpustné ve vodě (dusitany, dusičnany).

Také obsah tuků a jim podobných látek je v jablkách téměř zanedbatelný, jejich obsah nebývá větší než 0,3 %. Najdeme je především u některých aromatických látek ve slupce nebo jako složku ojínění.¹

2.3 VYBRANÉ METODY STANOVENÍ SACHARIDŮ V JABLEČNÝCH ŠŤÁVÁCH A MOŠTECH

Metod vyvinutých pro stanovení jednotlivých sacharidů (glukózy, fruktózy, sacharózy) bylo do současnosti vyvinuto poměrně mnoho.

V následující části diplomová práce přiblíží zvolené metody z hlediska jejich principů. Okrajově budou zmíněny i další metody.

2.3.1 Chromatografie

Chromatografie je analytickou a dělicí metodou, při které dochází k rozdělení látek na základě jejich pohybu mezi mobilní (pohyblivou) a stacionární (pevnou) fází. Zatímco mobilní fází je látka ve skupenství kapalném nebo plynném, stacionární fází bývá nejčastěji ve skupenství pevném nebo kapalném. Podle skupenství mobilní fáze pak dělíme chromatografii na plynovou nebo kapalinovou, přičemž existují kombinace stacionárních a mobilních fází takto: pevná látka – plyn, kapalina – plyn, kapalina – kapalina, kapalina – plyn.

Jiné dělení chromatografie je podle toho, na jakém základě dochází k migraci – rozdílné adsorpce, rozdělování, výměny iontů atd. a chromatografii pak podle toho dělíme na adsorpční, rozdělovací aj., přičemž se většinou stává, že se jednotlivé způsoby překrývají a kombinují.

Další z možných dělení chromatografie je podle způsobu provedení, kdy rozlišujeme chromatografii sloupcovou a chromatografii plošnou. Zatímco do sloupcové chromatografie se řadí chromatografie plynová a sloupcová kapalinové, do chromatografie plošné patří chromatografie na papíře a tenké vrstvě.^{5,15}

2.3.1.1 Chromatografie na tenké vrstvě

Při chromatografii na tenké vrstvě (TLC) se užívá tenké vrstvy jemnozrnného sorbentu nebo nosiče zakotvené fáze, který je uložen na vhodné

podložce. Tou bývá skleněná deska, hliníková nebo příp. plastová fólie. Tyto desky se dají buď zakoupit nebo se připravují v laboratoři.

Vzorek se většinou nanáší na suchý sorbent v takovém množství, aby nedocházelo k deformaci skvrn a bylo možné vzorek vyhodnotit. Po nanesení vzorku na sorbent se nechá rozpouštědlo odpařit, teprve poté se deska vloží do komory s mobilní fází na dně a nechá se vyvíjet (vzestupně nebo horizontálně). Po vystoupení čela do požadované výšky se deska vyjme, vysuší, a poté se provede detekce. Následně se vyjádří R_F faktor.^{5,7,10}

2.3.1.2 Papírová chromatografie

Papírová chromatografie je velmi jednoduchou a na zařízení nenáročnou metodou. Přibližně v polovině minulého století (40. a 50. léta) zaznamenala tato metoda veliký rozmach následovaný útlumem, avšak od roku 2008 je tato metoda opět na vzestupu zejména ve spojení s optickou detekcí.²¹

Principem metody je, podobně jako u chromatografie na tenké vrstvě, unášení vzorku mobilní fází. Nejprve se nanese vzorek ve vhodných vzdálenostech, poté se nechá odpařit rozpouštědlo a následně se chromatogram vloží do komory, kde se nechá vyvíjet. Vyvíjení může probíhat vzestupným nebo sestupným způsobem. Po vyvzlínání (sestoupení) mobilní fáze do požadované výšky (čela) se chromatogram vyjme, usuší a detekuje. Vhodně zvolenými detekčními činidly dochází ke zvýraznění skvrn, jejichž základě se určuje tzv. R_F faktor, což je prakticky poměr mezi vzdáleností středu skvrny od startu a vzdáleností čela mobilní fáze od startu.

Vzhledem k tomu, že nemůžeme docílit vždy úplně totožných podmínek, musíme do jisté míry počítat i s možnými odchylkami. Nejvíce se změny ve skvrnách na chromatogramech projevují při kolísání teploty a dále také má vliv nasycenost komory, způsob vyvíjení, druh papíru, obsah zakotvené fáze v papíře, případné změny mobilní fáze či přítomnost dalších látek ve zkoumané směsi.^{2,5,6,10}

2.3.2 Klasické analytické metody

Ke stanovení sacharidů se využívá velkého množství metod fyzikálních, fyzikálně-chemických, čistě chemických nebo biochemických.

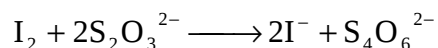
Většinou se ale využívají oxidačně-redukční vlastností sacharidů při reakcích v alkalickém prostředí. Jako nejvhodnější oxidační činidlo se pak jeví alkalické roztoky měďnatých solí, které se za tepla a přítomnosti redukujících sacharidů redukují na oxid měďný (Cu_2O). Tato reakce původně vychází z Fehlingových roztoků a je na ní založeno více metod. Původní roztoky však procházely různými modifikacemi, za zmínku stojí modifikace Luffem-Schoorlem anebo také modifikace Potteratem-Eschmannem. Velkou nevýhodou stanovení těmito způsoby je skutečnost, že se jedná o metody nestechiometrické, a proto je pokaždé nutné dodržet přesný postup.

Existují však i metody stechiometrické, mezi které patří stanovení metodou Kolthoffa, Kolthoffa-Kruischeera nebo Auerbacha-Bodländera-Boriese.

S ohledem na chemické složení jablek a jablečného moštu se jeví metody, které jsou zmíněny v následujících podkapitolách.

2.3.2.1 Stanovení redukujících sacharidů podle Luffa-Schoorla

Princip této metody je založen na skutečnosti, že se redukující sacharidy za varu v alkalickém prostředí redukují na měďnatou sůl a oxid měďný. Nezreagovaný přebytek měďnaté soli se následně stanoví jodometricky.²



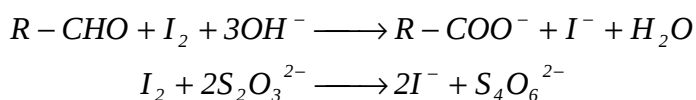
Metoda byla a je stále využívána kvůli vysoké přesnosti při dodržení postupu, především pro stanovení sacharidů v surovinách rostlinného původu.

Nejprve se však roztok vzorku musí tzv. vyčiřit, aby mohl být dále používán. K tomu může být použito např. Carrezovo čířidlo. To se používá především z důvodu dokonalého odstraňování bílkovin, o něco hůře odstraňuje slizovité látky ze zkoumaných vzorků. Chemicky se jedná o vytvoření objemové

sraženiny $Zn[Fe(CN)_6]$ v cukerném roztoku. K přípravě Carrezova čířidla se používá 0,5 ml 30% $ZnSO_4$ (Carrez I) a 0,5 ml 15% $K_2[Fe(CN)_6]$ (Carrez II).²

2.3.2.2 Stanovení aldóz metodou Auerbacha-Bodländera-Borriese

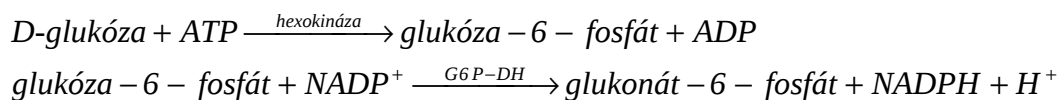
Principem metody je oxidace aldóz ve slabě alkalickém prostředí jodem na příslušné kyseliny a přebytek jódu se stanoví thiosíranem sodným. Tato metoda byla využívána především pro stanovení aldóz vedle dalších redukujících sacharidů, např. glukózy vedle fruktózy.²



2.3.3 Enzymové stanovení obsahu sacharidů

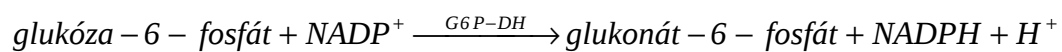
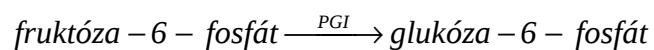
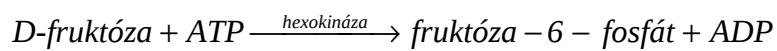
Jednou z využitelných metod pro stanovení obsahu sacharidů v ovocných nebo zeleninových šťávách je enzymové stanovení – NADPH spektrofotometrická metoda.

Principem je, že D-glukóza a D-fruktóza ve zředěném roztoku jsou fosforylovány na šestém uhlíku enzymově katalyzovanou reakcí směsí enzymů hexokinázy a adenosin-5-trifosfátem (ATP). D-glukóza je tak fosforylována na D-glukóza-6-fosfát, který je za přítomnosti enzymu dehydrogenázy (G6P-DH) a za přítomnosti nikotinamidadenindinukleotidfosfátu ($NADP^+$) oxidován na D-glukonát-6-fosfát, přičemž dochází zároveň k redukci $NADP^+$ na NADPH. Množství vytvořeného NADPH ekvivalentně odpovídá množství D-glukózy a zjišťuje se spektrofotometricky.



Pro stanovení fruktózy se D-fruktóza nejprve převede na fruktóza-6-fosfát pomocí směsi enzymů hexokinázy a adenosin-5-trifosfátem (ATP). Dále pak proběhne katalytická izomerace fruktóza-6-fosfátu za přítomnosti enzymu

izomerázy (PGI) na glukóza-6-fosfát, a poté opět proběhne oxidace glukóza-6-fosfát na D-glukonát-6-fosfát.



Protože se však jedná o metodu z ekonomického hlediska drahou, nebyla v této diplomové práci využita.

2.4 DIABETES MELLITUS

2.4.1 Co je diabetes a jeho typy

Diabetes mellitus (cukrovka; dále jen diabetes) je závažné onemocnění, které lze charakterizovat poruchou regulace hladiny glukózy. Dělí se na několik typů: diabetes 1. typu, diabetes 2. typu, gestační diabetes a sekundární diabetes.

Zdravý lidský organismus je dokonale přizpůsoben na zisk a využívání energie ze sacharidů a tím nejdůležitějším je glukóza. Lidský organismus je schopen držet si stále její určitou hladinu, tzv. glykémii. Především po konzumaci potravin dochází v každém lidském těle ke zvýšení glykémie a zdravý organismus na toto zvýšení reaguje zvýšenou tvorbou hormonu inzulínu. Inzulín je jediným hormonem v lidském těle, který umí snižovat hladinu glykémie na normální hodnotu. Je produkován ve formě prekursoru – proinzulínu v β -buňkách Langerhansových ostrůvků slinivky břišní. Teprve po aktivaci prekursoru na inzulín může dojít k regulaci glukózy v krvi.¹⁴ Bohužel tento systém u diabetiků selhává.

Pro diabetes 1. typu (někdy též zvaný juvenilní) je typický nedostatek inzulínu nebo je jeho hladina velmi nízká. K nedostatku dochází díky nepřirozené imunitní reakci, kdy organismus sám likviduje buňky produkující inzulín velmi podobným způsobem, jako by to dělal v případě cizorodých látek nebo cizorodých bakterií. Diabetes 1. typu je geneticky podmíněn a ke vzniku obvykle dochází u dětí a mladých lidí do 30 let (proto také jiný název juvenilní), ale může se vyskytovat i ve vyšším věku. Spouštěčem onemocnění může být i imunitní reakce na např. obyčejné nachlazení nebo stresová zátěž apod.^{15,18}

Oproti diabetu 1. typu je diabetes 2. typu typický normální hladinou nebo dokonce i přebytkem inzulínu v krvi, v těle nemocného však dochází k poruše citlivosti tkání na inzulín (chybí receptory na kompetentních buňkách), a proto dochází k relativnímu inzulínovému nedostatku. Stejně jako v předchozím případě diabetu, je i diabetes 2. typu geneticky podmíněn, ale jiným způsobem než diabetes 1. typu.¹⁵ Zároveň také závisí na stravovacích návycích a celkovém životním stylu člověka. Velmi často je totiž vznik diabetu 2. typu

spojován s nedostatkem pohybu a přejídáním, kombinací obojího dochází ve většině případů ke vzniku obezity, která je velmi často pro vznik diabetu 2. typu určující.¹⁹

Mezi další typy diabetu se řadí gestační diabetes (těhotenská cukrovka), která vzniká asi u 3 % všech těhotných žen většinou v druhé polovině těhotenství a projevuje se pouze u žen, které k ní mají vrozené dispozice. S odloučením placenty však klasický gestační diabetes končí.

Mezi sekundární typy (ostatní specifické typy) diabetu se řadí diabetes vzniklý poškozením slinivky břišní nějakým zánětem nebo operací, dědičné poruchy, funkční poruchy některých žláz s vnitřní sekrecí (např. nadledvin či štítné žlázy) nebo diabetes vzniklý díky působení některých chemikálií i léků, které mají za následek zvýšení glykémie.⁵⁵

2.4.2 Postupy v léčbě diabetu

Existuje několik základních obecných doporučení pro léčbu shodných pro všechny diabetiky. Mezi ně patří především dodržování lékaři stanovené léčby a správné diabetické diety doplněné přiměřeným pohybem.

Lékaři stanovená léčba se u diabetu 1. typu zakládá na doživotní aplikaci inzulínu. Na základě určitých faktorů – pohlaví, věk, tělesná zdatnost, celkový zdravotní stav apod. lékař diabetikovi určuje četnost dávek a množství aplikovaného inzulínu.¹⁸

V dnešní době je na trhu pro diabetiky k dostání několik druhů přípravků, které se od sebe navzájem liší. Cílem každého je ale vždy co nejvíce se přiblížit a napodobit fyziologickou produkci inzulínu v organismu během dne. Podle rychlosti a doby působení se inzulíny dělí na rychle působící a na tzv. depotní inzulíny. Ty mají prodloužený účinek a podle délky trvání se ještě dále dělí na depotní inzulíny s mírným, středním a velmi prodlouženým účinkem. Kromě těchto typů inzulínů existují ještě kombinované, které obsahují jak krátce působící, tak i středně dlouho působící inzulín. Z hlediska chemické struktury se pak inzulíny dělí na lidský (humánní) inzulín a tzv. inzulínová analoga. Lidský inzulín, vyráběný v současnosti pomocí genetického inženýrství,

je strukturou a i působením zcela shodný s inzulínem produkovaným lidským organismem. Naproti tomu inzulínová analoga mají vlastní strukturu oproti lidskému inzulínu trochu pozměněnu tak, aby se docílilo např. rychlejšího vstřebávání, jiné rozpustnosti apod. K léčbě diabetiků je většinou potřebná kombinace více druhů.^{24, 52}

K aplikaci inzulínu v současné době diabetici nejvíce využívají tzv. inzulínová pera nebo inzulínové pumpy. Inzulínová pera nahradila dříve používané inzulínové jehly a z pohledu diabetika mezi jejich přednosti patří především jednoduchá aplikace, rychlá a nenápadná manipulace téměř kdykoli a kdekoli, včetně velmi pěkného designu. Na českém trhu je v současnosti k dostání několik různých druhů (určená speciálně pro děti, s pamětí a další), z nichž si mohou diabetici sami vybírat.

Inzulín je nezbytným pomocníkem v případě léčby diabetu 1. typu, ale nemusí být nezbytný k léčbě diabetu 2. typu. Podle současných trendů v léčbě diabetu (odpovídajících nejnovějším vědeckým výzkumům) by měl být každý nově diagnostikovaný pacient s diabetem podroben tzv. intenzifikaci léčby, která spočívá v zahájení farmakologické léčby ihned po stanovení diagnózy. Klinickými studiemi v posledních letech bylo totiž dokázáno, že intenzivní (farmakologická) léčba diabetu oddaluje vznik pozdějších komplikací.^{27, 28, 29}

V případě léčby diabetu 2. typu je kromě farmakologické léčby důležité také dodržování stanovené diabetologické diety a zařazení pohybové aktivity do pravidelného režimu pacientů, což bývá velmi často spojováno s částečnou redukcí hmotnosti pacientů. Nezřídka kdy totiž pacienti patří do skupiny lidí s vyšší tělesnou hmotností (BMI – body mass index, vyšší než 25), která může vzniknout kombinací genetické podmíněnosti, přejídáním i nedostatkem pohybu. Už jen samo zahájení pravidelného pohybu a dodržování diabetické diety může vést ke zlepšení v rámci diabetu, případně až k normalizaci glykémie a také většinou dochází ke snižování zdravotních rizik.¹⁹

2.4.3 Diabetická dieta jako součást léčby

Součástí léčby diabetu 1. i 2. typu je dodržování základní diabetické diety. Základem diety by měla být především pestrost a střídmost stravy a omezený příjem polysacharidů (mono- a oligosacharidů by se měli diabetici pokud možno vyvarovat). Vstřebávání sacharidů v organismu člověka je totiž ovlivněno i jejich strukturou, při jednodušší (ta se vyskytuje právě u mono- a oligosacharidů) dochází k rychlému vstřebávání do krve a tím i k prudkému nárůstu glykémie, zatímco u polysacharidů dochází ke vstřebávání do krve delší dobu a koncentrace glukózy v krvi tak vzrůstá pomaleji. I tak je ale diabetik omezován na příjem určitého množství těchto sacharidů denně, základem je 225 g, ale s přihlédnutím k pohlaví, věku, zdravotnímu stavu, fyzické aktivitě a dalším faktorům tuto hodnotu určuje ošetřující lékař.

Stanovenou dávku sacharidů je dobré v průběhu dne rovnoměrně rozdělit. Vhodné je konzumovat 5 – 6 jídel denně, z toho by měla být 3 jídla hlavní (snídaně, oběd, večeře), mezi kterými by měla být 5 – 6 hodinová pauza. Do těchto přestávek se zařazuje menší svačina (dopolední a odpolední svačina, druhá večeře). Hlavní jídla by při základní diabetické dietě měla obsahovat asi 60 g sacharidů, menší svačiny by měly obsahovat 10 – 15 g sacharidů a to tak, aby se celkový denní příjem sacharidů pohyboval okolo 225 g, nebo aby se této hodnotě přiblížil.⁵⁷

Dalším důležitým krokem při diabetické dietě je počítání energetické hodnoty konzumovaných potravin. Z té si diabetik vypočítává, kolik inzulínu si má před jídlem aplikovat, případně jaké množství potravin může zkonzumovat. Zkušenější a dlouhodobější diabetici ale říkají, že postupem času se člověk naučí množství jídla odhadnout. Dalším možným způsobem je počítání tzv. výměnných (sacharidových) jednotek namísto energetické hodnoty, kdy je obsah sacharidů vyjádřen určitým ekvivalentem (1 výměnná jednotka nejčastěji představuje 10 nebo 12 g sacharidů). Výměnné jednotky jsou dány podle tabulek, které jsou dostupné nejen na internetu jako edukační materiály pro diabetiky, ale i v ordinacích ošetřujících lékařů.²⁰

Mezi doporučené potraviny v jídelníčku diabetiků patří zelenina, některé druhy ovoce, mléko a mléčné výrobky s obsahem tuku do 30 %. Z masa se doporučují ryby (treska, okoun, pstruh, mořská štika) a netučná mladá masa (králík, krůta, kuře), z dalších masných výrobků diabetici mohou konzumovat drůbeží párky a tlačenko, šunkový salám nebo vepřovou dušenou šunku a vepřovou kýtu. Z pekárenských výrobků je doporučováno především celozrnné a tmavé pečivo, křehký chléb, také celozrnné těstoviny a rýže a bezvaječné těstoviny. Velmi důležité je pro diabetiky dodržovat pitný režim, dovolené jsou minerálky bez příchutě, neslazené čaje, stolní vody, případně nízkenergetické nebo light nápoje. Ke slazení mohou používat nekalorická sladidla jako je sacharin, aspartam, acesulfam K nebo cyklamáty.⁵⁷

Mezi nevhodné potraviny pro diabetiky můžeme zařadit ovoce ve formě kompotů, sušené nebo kandované ovoce, přezrálé a také všechny typy ořechů a tučná semínka, zelenina je nevhodná ve smažené úpravě (např. smažený květák). Z mléčných výrobků jsou nevhodná plnotučná a kondenzovaná mléka smetana, šlehačka, tatarka, sýry s obsahem tuku nad 40 %. Dále se nedoporučuje konzumovat masa jako je bůček, krkovice, ovar, vnitřnosti, jitrnice nebo tlačenko, z masných výrobků pak salámy, vuřty, škvarky, paštiky nebo tučné vývary. Z ryb jsou nevhodné tučné druhy, za další jikry a mlíčí, tučné vývary z ryb nebo ryby ve smažené úpravě. Nevhodnými pekárenskými výrobky jsou pro diabetiky koblihy, loupáky, briošky, vánočky či kynuté koláče a sladkosti jako dorty, sušenky, bonbóny, čokolády. Z nápojů by neměli konzumovat sladké nápoje, tvrdý alkohol, burčák, sladká vína nebo vícestupňová piva. Jako naprosto nevhodná jsou sladidla jako je med, klasický cukr nebo fruktóza.⁵⁷

2.4.4 Zdravotní komplikace při onemocnění diabetem

Každé onemocnění, včetně diabetu, v určité fázi rozvoje souvisí s možnými zdravotními komplikacemi, které se časem projeví u vysokého procenta všech pacientů. U diabetiků se jedná o tzv. pozdní komplikace, ke kterým se řadí především postižení očí, nervů, ledvin, ateroskleróza, porucha funkce trávicího ústrojí a u mužů také dochází k poruchám erekce.

Příčinami vzniku těchto zdravotních komplikací bývá postižení cév (malých i velkých), které je způsobováno hlavně zvýšenou hladinou glykémie, ale i dalšími faktory jako je vysoký krevní tlak či vysoká hladina tuků v krvi.⁵⁰

Nejčastější pozdní komplikací je v současnosti diabetická neuropatie nebo-li postižení nervů. To postihuje především periferní nervy horních a dolních končetin, ale může postihnout i další části těla. Při postižení končetin se zpravidla projevuje poruchou citlivosti, příznaky jsou mravenčení, brnění, pálení prstů i v klidu (nohy) i neobratnost pohybů (ruce). Pokud se včas nezačne s léčbou, může docházet k bolestem v oblasti bérců, pacient postupně přestává být citlivým na tlak, teplo, bolest, což někdy vede až k úplné ztrátě citlivosti. Mezi další formy neuropatie patří např. okohybné poruchy, necitlivost a příp. bolest na trupu, bolest a ochabování stehenního a pánevního svalstva. K poruchám může také docházet u jednotlivých nervů, hlavně u těch, které probíhají zúženými místy. V praxi se tak můžeme setkat se vznikem např. syndromu karpálního tunelu (nerv probíhající přes zápěstí do ruky) nebo se syndromem kubitálního sulku (postižen nerv v oblasti lokte).³⁷

Poměrně často dochází i k postižení nervů vnitřních orgánů, což se projevuje především poruchami trávicího traktu (zácpa, průjem, zvracení, nechutenství), vylučovacího ústrojí (časté močové infekce) a poruchami srdečního rytmu.³³

V případě postižení dolních končetin můžeme také hovořit o tzv. syndromu diabetické nohy, které se dá pravidelnou a důslednou péčí předcházet. Největší podíl na vzniku syndromu má hyperglykémie (vysoká hladina cukrů v krvi), v jejímž důsledku dochází ke vzniku a urychlení aterosklerózy – kornatění cév, které je příčinou zhoršeného prokrvování tkání dolních končetin. Dalšími nezanedbatelnými faktory je neuropatie (viz výše) a fakt, že jakákoliv zranění se u diabetiků hojí hůře než u ostatních pacientů. To je dáno mimo jiné také vlastností bakterií, které sacharidy využívají jako poměrně dobrou živinu. Léčba diabetické nohy primárně spočívá v chirurgickém zákroku (odstranění mrtvé tkáně), posléze může být doplněna farmakologickou léčbou. V případě zanedbání péče však tento syndrom může skončit i různě rozsáhlými

amputacemi, které musí být nezřídka opakovány (rány po amputaci se špatně hojí stejně jako ty původní).³⁶

Další z častých onemocnění, které podmiňují vznik i ostatních komplikací, je diabetická mikroangiopatie a diabetická makroangiopatie. V případě diabetické mikroangiopatie se jedná o postižení drobných cév, změny se projevují především u očí, ledvin a již dříve zmíněných nervů (viz diabetická neuropatie). Při diabetické makroangiopatii dochází k postižení velkých cév, v podstatě ji můžeme přirovnat k rychlejšímu procesu aterosklerózy. U diabetiků je průběh bohužel vážnější a také nastává v nižším věku než u pacientů bez diabetu. V důsledku toho dochází u diabetiků častěji k srdečním infarktům, mozkovým příhodám a také ateroskleróza přispívá i k amputacím nohou (viz výše diabetická noha).^{35, 46}

Pozdní komplikace jsou také spojené s diabetickou nefropatií a retinopatií. Za příčinu vzniku těchto dvou pozdních komplikací můžeme označit diabetickou mikroangiopatii, která postihuje drobné cévy (viz výše). V případě ledvin se jedná o poškození drobných cév glomerulů, které ve zdravém organismu slouží k filtraci krve, postupně jsou z krve odváděny odpadní (tělu nepotřebné) látky a dochází ke vzniku moči. U diabetiků dochází k poruše zpětného vstřebávání bílkovin do krve, které se tak vylučují do moči. V konečné fázi může dojít až k selhání ledvin, které diabetika učiní závislým na hemodialýze a na transplantaci. Při diabetické retinopatii dochází k poškození drobných cév v oku, v jehož důsledku dochází ke změnám na očním pozadí – špatnému prokrvení sítnice. To bývá příčinou zhoršeného vidění, které může postupně vést až k úplné slepotě, případně může docházet k otokům sítnice (cévy „netěsní“ a vytéká z nich tekutina, která otok způsobuje). K projevům retinopatie dochází s časovou prodlevou, což prakticky znamená, že se změny mohou projevovat i několik let po propuknutí diabetu. Ovlivňujícími faktory pro vznik a vývoj retinopatie bývá dlouhodobě špatná (nebo vůbec žádná) kompenzace diabetu, délka trvání diabetu (to ale ovlivnit nemůžeme), zvýšená hladina tuků v krvi a zvýšený krevní tlak. U žen může být příčinou a zhoršujícím faktorem také těhotenství.^{38, 39}

Přibližně u 70 % mužů-diabetiků dochází v důsledku poškození drobných cév také k poruchám erekce. Tato porucha bývá nejčastější sexuální poruchou

mužů, ale v mnoha případech je chorobou léčitelnou. Primární příčinou bývají většinou zdravotní důvody, ale později (po prvním nezdaru) může docházet k psychickému bloku (např. pocity nejistoty, nervozita), často bývají potíže kombinovány. Současná léčba zahrnuje několik možných způsobů, nejčastějším je perorální aplikace tablet, které jsou dostupné v několika druzích a rozlišují se především podle délek účinnosti. Mezi další možné způsoby léčby patří využívání vakuových pump, injekce nebo případně implantáty do penisu.³⁴

Prevenčí pro diabetické pacienty, kterou mají všechny projevované komplikace společné, je dodržování lékařem stanovené léčby, pravidelné stravování na základě diabetické diety, zákaz kouření, dostatek přiměřeného fyzického pohybu. Pacient by se měl snažit o docílení ideální normální váhy, normalizovat krevní tlak a také udržet nízkou hladinu tuků v krvi.

3 PRAKTICKÝ EXPERIMENT

Cílem praktického experimentu bylo prozkoumat obsah jednotlivých sacharidů (fruktózy, glukózy, sacharózy) ve vybraných jablečných odrůdách. Jako na sobě nezávislé metody byly zvoleny metoda chromatografická spojená s optickým stanovením a vyhodnocením a metody titrační – pro stanovení glukózy metoda Auerbacha-Bodlándera-Borriese a pro stanovení redukujících sacharidů metoda Luffa-Schoorla, z jejichž rozdílu výsledků se pak vypočítal obsah fruktózy a sacharózy.

Následně bylo důležité výsledky jednotlivých metod (chromatografické a titrační) mezi sebou porovnat. Všechny výsledky jsem uvedla do tabulky a v samotné podkapitole (3.4) je zhodnotila.

Dále jsem provedla porovnání výsledků moštů z hlediska poměru obsahu fruktózy a glukózy, který je důležitý pro stravování diabetiků a který by měl být zhruba 4:1, resp. poměr fruktóza:glukóza:sacharóza by měl být 60:15:15, což bylo hlavním kritériem.

Jako poslední úkol jsem si zvolila doplnění dat pomocí dotazníku, kterým jsem testovala, jak různí lidé mohou vnímat organoleptické vlastnosti jablek a jak se shodují nebo neshodují (viz *Příloha č. 10* a *Příloha č. 11*)

3.1 ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Nejprve bylo důležité shromáždit dostatečně reprezentativní vzorek jednotlivých zkoumaných odrůd. Odrůdy byly vybrány ze sklizně roku 2009, pro porovnání bylo vybráno náhodně i několik odrůd ze sklizně roku 2010.

Jablka byla ihned po sklizni uskladněna za teploty 2 až 3 °C a za vlhkosti ne menší než 80 %. Během skladování docházelo k průběžnému odvětrávání prostor, aby se zabránilo hromadění ethylenu, který urychluje proces zrání.

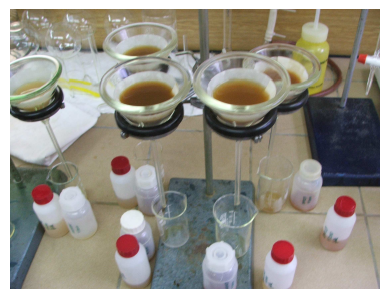
Všechny vzorky byly ručně zpracovány na mošty a to tak, že byla nejprve zvážena celá jablka. Následně byla jablka vyjadřincována tak, aby došlo k minimálním váhovým ztrátám. Poté byla jablka rozmixována na jemnou drť a ručně vymačkána přes čistou bavlněnou plenu. Takto připravené vzorky moštů byly zamrazeny při běžné mrazicí teplotě (asi -18 °C) proto, aby se omezily možné změny ve vzorcích (enzymatické změny, neenzymatické hnědnutí, viskozita, koloidní stabilita, obsah fenolových kyselin, flavonoidů aj.^{16,41,42,43,44,45,49}). Další možností konzervace a uskladnění vzorků pro další využití bylo tepelné zpracování, ale z obavy, že by mohlo dojít ke změnám složení vzorků, jsem tuto možnost zavrhl.

Následně byly zamražené mošty postupně rozmrazovány a filtrovány, aby došlo k odstranění největší zbytkových částic dužniny po filtraci přes bavlněnou plenu (viz *Obrázek 32: Filtrace moštů*, *Obrázek 31: Filtrace moštů*). Mošty byly vyráběny celkem třikrát:

- 3. 1. 2010 – odrůdy Bohemia, Golden Delicious, Idared, James Grieve, Jonagored, Melodie, Melrose, Šampion a Topaz (dále v textu označené jako 1)
- 9. 5. 2010 – odrůdy Golden Delicious, Idared a Jonagored (dále v textu označené jako 5)
- 14. 10. 2010 – odrůdy Bohemia, Golden Delicious, Idared, Melodie a Šampion (dále v textu označené jako 10)



Obrázek 32: Filtrace moštů



Obrázek 31: Filtrace moštů

3.2 CHROMATOGRAFIE

Pro stanovení sacharidů pomocí chromatografie v kombinaci s optickým vyhodnocením jsem zvolila chromatografii na tenké vrstvě a papírovou chromatografii.

3.2.1 Chromatografie na tenké vrstvě

Zvolila jsem detekci na tenké vrstvě s ohledem na její časté používání. Připravila jsem si 2 vyvíjecí komory pro vzestupnou chromatografii.

Připravila jsem si dvě různé vyvíjecí soustavy: jednu ve složení ethylacetát-pyridin-voda (v poměru 2:1:5) a druhou vyvíjecí soustavu ve složení butanol-octová kyselina-voda (v poměru 4:1:5 – horní vrstva). Po přípravě jsem tyto vyvíjecí soustavy vlila v přiměřeném množství na dno komor a chvíli jsem nechala sytit komoru jejich parami.

Mezitím jsem si na desky Silufolu (rozměry 15 x 15 cm) nanasla na označený start vzorky v množství 2 μ l a vzniklé skvrny nechala volně uschnout. Po úplném zaschnutí jsem desky Silufolu vložila do komor a nechala vyvíjet několik hodin. Po vyjmutí jsem desky Silufolu nechala volně uschnout.

Pro přípravu detekčního činidla jsem si nejprve připravila zásobní roztok rozpuštěním 1 g anilinu a 1 g difenylaminu ve 160 ml acetonu. Následně jsem 16 ml tohoto zásobního roztoku smíchala s 1 ml 85% H_3PO_4 a promíchala a přelila do fixírky (rozprašovače).

Po uschnutí jsem desky Silufolu se vzorky dobře upevnila v digestoři, po celé ploše rovnoměrně postříkala detekčním činidlem a sušila asi 3 minuty v sušárně při teplotě 110 až 120 °C.

Poté jsem desky vyndala a vyhodnotila.

3.2.2 Papírová chromatografie

3.2.2.1 Vzestupná chromatografie

Papírovou chromatografií jsem si zvolila kvůli její jednoduchosti a především nenáročnosti na vybavení.

Stejně jako v případě chromatografického dělení jsem si připravila dvě vyvíjecí komory pro vzestupnou chromatografií.

Připravila jsem si dvě různé vyvíjecí soustavy: jednu ve složení ethylacetát-pyridin-voda (v poměru 2:1:5) a druhou vyvíjecí soustavu ve složení butanol-octová kyselina-voda (v poměru 4:1:5 – horní vrstva). Po přípravě jsem tyto vyvíjecí soustavy vlila v přiměřeném množství na dno komor a chvíli jsem nechala sytit komoru jejich parami.

Mezitím jsem si na chromatografický papír (rozměry 15 x 15 cm) nanasla na označený start vzorky v množství 2 μ l a vzniklé skvrny nechala volně uschnout. Po úplném zaschnutí jsem papír vložila do komor a nechala vyvíjet několik hodin. Po vyjmutí jsem papír nechala volně uschnout.

Pro přípravu detekčního činidla jsem použila stejný zásobní roztok jako v případě detekce na tenké vrstvě a také stejným způsobem, tj. že jsem smíchala 16 ml tohoto zásobního roztoku smíchala s 1 ml 85% H_3PO_4 , promíchala a přelila do fixírky (rozprašovače).

Po uschnutí jsem papír se vzorky dobře upevnila v digestoři, po celé ploše rovnoměrně postříkala detekčním činidlem a sušila asi 3 minuty v sušárně při teplotě 110 až 120 °C.

Poté jsem detekovaný chromatogram vyndala a vyhodnotila.

3.2.2.2 Sestupná chromatografie

Pro sestupnou chromatografií jsem si připravila pouze vyvíjecí soustavu butanol-octová kyselina-voda (v poměru 4:1:5 – horní vrstva). Na papír určený pro chromatografií jsem naznačila start a ve stejných intervalech nanasla vzorky a standardy – vždy 3 vzorky a 4 standardy v množství 5 μ l, vzniklé skvrny jsem následně nechala volně uschnout. Takto připravený papír se vzorky jsem opatrně

umístila do žlábků, zatížila skleněnými tyčinkami a vložila do chromatografické komory pro sestupnou chromatografii, kam jsem předtím na dno nalila malé množství směsi vyvíjecí soustavy z důvodu nasycenosti par v komoře. Po umístění žlábků tak, aby se papír nedotýkal stěn, jsem do žlábků opatrně nalila vyvíjecí soustavu a nechala vyvíjet.

Dobu vyvíjení jsem postupnými experimentálními pokusy stanovila na čas 9 až 10 hodin maximálně. Při době kratší než 9 hodin nebylo patrné rozdělení skvrn jednotlivých sacharidů, při době výrazně delší než 10 hodin došlo k tzv. chvostování,



Obrázek 33: Chvostování chromatogramu

což se projevilo především na velmi protáhlých tvarech skvrn, u kterých nešlo určit jejich střed a tím pádem ani žádné hodnoty (viz *Obrázek 33: Chvostování chromatogramu*).

Po 9hodinovém (max. 10hodinovém) vyvíjení jsem papír opatrně vyndala a nechala uschnout do druhého dne, kdy jsem provedla detekci.

Na detekci jsem použila stejný zásobní roztok jako v případě chromatografie na tenké vrstvě, tj. že se ve 160 ml acetonu rozpustil 1 g anilinu a 1 g difenylaminu. 16 ml tohoto zásobního roztoku jsem smíchala s 1 ml 85 % H_3PO_4 a nalila do fixírky.

Druhý den po vyjmutí z chromatografické komory jsem uschnutý papír pevně umístila v digestoři, detekovala připraveným činidlem a následně usušila v sušárně při teplotě 110 až 120 °C po dobu 3 minut.

Následně jsem chromatogram vyfotila pro optické vyhodnocení za pomoci programu ImageJ (viz *Příloha č. 6, Příloha č. 7, Příloha č. 8, Příloha č. 9 a Příloha č. 12*) a vyhodnotila také z hlediska R_F faktoru (viz *Příloha č. 3*).

3.3 KLASICKÉ ANALYTICKÉ METODY

3.3.1 Stanovení redukujících sacharidů metodou Luffa-Schoorla

3.3.1.1 Příprava vzorků

Pro stanovení redukujících sacharidů je potřeba připravit si ze vzorků ethanolový výluh. Každý vzorek (mošt ze zkoumané odrůdy) jsem diferenčně navážila na analytických vahách a převedla do 250ml odměrné baňky společně se 125 ml 80% ethanolu. Obsah baňky jsem zahřívala po dobu jedné hodiny na vodní lázni, občas jsem baňku promíchala krouživým pohybem. Potom jsem baňku nechala stát minimálně 5 hodin (většinou do druhého dne), doplnila 80% ethanolem ke značce, obsah promíchala, nechala usadit a čirý roztok jsem zfiltrovala. 100 ml filtrátu jsem odpipetovala do 250ml kádinky a ethanol opatrně odpařovala na vodní lázni. Zahuštěný obsah (asi 30 ml) jsem převedla do 100ml odměrné baňky, ochladila pod proudem studené vody a po kapkách jsem postupně přidávala nejprve 3 ml Carrezova čířidla I a poté 3 ml Carrezova čířidla II. Obsah baňky jsem promíchala, doplnila ke značce a po několika minutách zfiltrovala tak, aby filtrát zůstal čirý.

3.3.1.2 Příprava Carrezova čířidla

Vypočítala jsem si potřebná množství síranu zinečnatého (ZnSO_4) a hexakynoželeznanu draselného ($\text{K}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) pro přípravu příslušných roztoků, tj. 30% roztok síranu zinečnatého jako Carrez I a 15% roztok hexakynoželeznanu draselného jako Carrez II. Příslušné navážky jsem kvalitativně převedla do odměrných baněk, doplnila po rysku vodou a promíchala.

3.3.1.3 Příprava Luffova roztoku

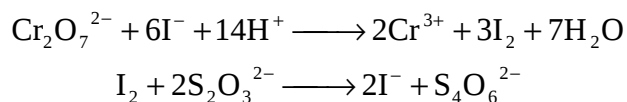
Navážila jsem 388 g krystalického uhličitanu sodného ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) a tuto navážku jsem rozpustila ve 400 ml destilované vody, roztok jsem převedla do 1000ml odměrné baňky. Dále jsem si připravila roztok kyseliny citrónové

a roztok síranu měďnatého. Roztok kyseliny citrónové jsem připravila tak, že jsem navážila 50 g jejího monohydrátu ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$), toto množství jsem rozpustila v 50 ml vody. Roztok síranu měďnatého jsem připravila z navážky 25 g jeho pentahydrátu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) a tu jsem rozpustila ve 100 ml vody. Po ochlazení roztoku uhličitanu sodného jsem nejprve přidala připravený roztok kyseliny citrónové a poté připravený roztok síranu měďnatého. Důkladně jsem promíchala a doplnila po rysku vodou.

3.3.1.4 Příprava a standardizace roztoku 0,1M thiosíranu sodného

Vypočítala jsem si potřebné množství pentahydrátu thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) pro přípravu 0,1M roztoku, které jsem po navážení kvalitativně převedla do 1l odměrné baňky. Poté jsem ještě navážila (a převedla do odměrné baňky) vypočítaný přídavek krystalického uhličitanu sodného ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$), který se do roztoku přidává, aby se zabránilo rozkladu thiosíranu. Obsah jsem promíchala, doplnila vodou po rysku a nechala týden v klidu stát.

Po týdnu jsem provedla standardizaci roztoku na dichroman draselný ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Podle následujících reakčních rovnic



jsem vypočítala potřebné množství dichromanu ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) pro stanovení koncentrace roztoku thiosíranu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

Při samotném stanovení jsem si nejprve připravila 50 ml roztoku dichromanu draselného ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) o známé koncentraci (cca $c = 0,016\text{M}$), ze kterého pipetovala 10 ml do titrační baňky. Poté jsem přidala 4 ml 2M kyseliny sírové (H_2SO_4) a asi 1 g jodidu draselného (KI). Vzniklý žlutohnědý roztok jsem titrovala roztokem thiosíranu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) do světle žlutého zbarvení, přidala trochu škrobového mazu (0,5%) a titrovala do vymizení modrého zbarvení. Na základě spotřeby thiosíranu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) a množství dichromanu ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) jsem vypočítala přesnou koncentraci thiosíranu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) s přesností na 4 desetinná čísla.

3.3.1.5 Postup při stanovení redukujících sacharidů

Do 250ml Erlenmayerovy baňky jsem napipetovala 25 ml Luffova roztoku a takové množství vzorku, aby obsahovalo maximálně 50 mg redukujících sacharidů. Toto množství vzorku jsem experimentálně určila na 10 ml, které jsem doplnila 15 ml vody tak, aby zůstal zachován celkový objem 50 ml. Baňku jsem umístila pod zpětný chladič, během 2 až 3 minut zahřála k varu a mírně vařila přesně po dobu 10 minut. Poté jsem var přerušila a baňku ihned ochladila pod proudem studené vody. K vychladlému roztoku jsem přidala 3 g jodidu draselného (KI), 20 ml 25% kyseliny sírové (H_2SO_4) a ihned titrovala 0,1M roztokem thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) do slabě žlutého zbarvení. Přidala jsem ještě 3 ml 2% škrobu a dotitrovala do vymizení modrého zbarvení.

Stejný pokus jsem pak provedla i při slepém pokusu, kde jsem místo cukerného roztoku použila 25 ml Luffova roztoku a 25 ml vody.

Obsah redukujících sacharidů jsem vypočítala na základě rozdílu spotřeb 0,1M thiosíranu sodného mezi slepým a vlastním stanovením, který na základě tabulky z návodu a její interpolace (viz *Příloha č. 4*, *Příloha č. 5*) odpovídá množství v mg přítomných redukujících sacharidů v alikvotním podílu.

3.3.1.6 Stanovení redukujících sacharidů po inverzi

Nejprve jsem si připravila invertovaný roztok tak, že jsem z filtrátu pro stanovení před inverzí (zahuštěný ethanolový výluh upravený Carrezovým čířidlem a doplněný vodou) napipetovala 10 ml do 100ml odměrné baňky, přidala 25 ml vody, 2 ml kyseliny chlorovodíkové (HCl), obsah promíchala a do baňky vložila teploměr. Baňku jsem ponořila do vodní lázně o 71 °C.

Během 2 až 4 minut se teplota v baňce zvýšila na 67 až 69 °C a při této teplotě jsem roztok udržovala přesně 5 minut. Poté jsem baňku vyjmula, rychle ochladila pod proudem studené vody. Přidala jsem několik kapek methylovanže a zneutralizovala přidáním 4M roztokem hydroxidu sodného (NaOH) až do cibulového zbarvení indikátoru. Po vytemperování jsem baňku doplnila po rysku a obsah jsem promíchala. Do 250ml Erlenmayerovy baňky jsem napipetovala 10 ml roztoku po inverzi, 15 ml vody a 25 ml Luffova roztoku.

Pro stanovení celkových redukujících sacharidů jsem dále pokračovala stejně jako při předchozím stanovení.

3.3.1.7 Stanovení sacharózy

Obsah sacharózy jsem ve vzorku vypočítala podle návodu tak, že jsem obsah redukujících sacharidů po inverzi vynásobila faktorem 0,95 a od tohoto výsledku jsem odečetla množství redukujících sacharidů před inverzí. Tento celkový rozdíl jsem ještě vynásobila faktorem 0,95 a tím jsem získala množství sacharózy ve vzorku.

3.3.2 Stanovení aldóz metodou Auerbacha-Bodländera-Borriese

3.3.2.1 Příprava vzorku

Nejprve jsem provedla filtraci moštů přes filtrační papír. Poté jsem navážila takové množství moštu pro přípravu cukerného roztoku tak, aby obsahoval 10 až 200 mg glukózy (cca 5 g), převedla do 100ml odměrné baňky, doplnila po rysku vodou a promíchala.

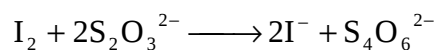
3.3.2.2 Příprava a standardizace 0,05M roztoku jódu

Vypočítala jsem si potřebné množství jodu (I_2) pro přípravu jeho 0,05M roztoku (12,6905g), ve skutečnosti jsem ale navážila toto množství v 15% přebytku, tzn. 14,62 g (bylo mi doporučeno z důvodu celkového špatného rozpouštění jódu). Do třecí misky jsem navážila 12,5 g jodidu draselného (KI), ke kterému jsem převedla jód a tuto směs jsem začala třít. Po malých množstvích jsem přidávala vodu a tyto rozpuštěné podíly jsem postupně převáděla do 1l odměrné baňky. Po celém převedení jsem objem doplnila po rysku a uložila do hnědé zásobní láhve.

Pro standardizaci roztoku jódu jsem využila již stanovený roztok thiosíranu sodného ($Na_2S_2O_3$). Do Erlenmayerovy baňky jsem napipetovala 10 ml roztoku jódu (I_2), přiměřeně zředila destilovanou vodou a okyselila přidávkem

5 ml kyseliny chlorovodíkové (HCl, 1:4). Takto vzniklý roztok jsem titrovala thiosíranem do světle žlutého zbarvení, přidala jsem ještě 5 ml škrobu a titrovala do odbarvení.

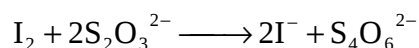
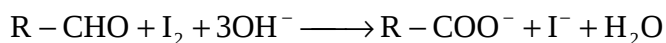
Výpočty jsem provedla na základě spotřeby a stanovené koncentrace thiosíranu a reakční rovnice.



3.3.2.3 Postup při stanovení glukózy

Z připraveného cukerného roztoku jsem pipetovala 25 ml do zabroušené 500 ml Erlenmayerovy baňky, přidala 50 ml 0,2 M roztoku uhličitanu sodného (Na_2CO_3) a 50 ml 0,2M roztoku hydrogenuhličitanu sodného (NaHCO_3) a poté jsem přidala 15 ml 0,05M roztoku jódu (I_2). Baňku jsem zazátkovala a nechala stát v temnu 1,5 až 2 hodiny. Po 1,5 hodině jsem ukončila dobu stání, zátku opláchla malým množstvím vody, přidala 12 ml 25% kyseliny sírové (H_2SO_4) a titrovala 0,1M roztokem thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) do odbarvení.

Výpočty množství glukózy jsem provedla na základě následně uvedených reakčních rovnic a faktu, že se jedná o zpětnou titraci.



3.3.2.4 Stanovení fruktózy

Množství fruktózy jsem vypočítala jako rozdíl mezi redukujícími sacharidy (podle Luffa – Schoorla) a množstvím stanovené glukózy.

3.4 ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

3.4.1.1 Chromatografie na tenké vrstvě

V případě chromatografického dělení v soustavě ethylacetát-pyridin-voda (v poměru 2:1:5) došlo k vytvoření tzv. druhého čela, což znemožnilo chromatografické dělení, a proto jsem tuto soustavu pro další zkoumání vyřadila. Ani dělení v soustavě butanol-octová kyselina-voda (v poměru 4:1:5 – horní vrstva) nebylo ideální, došlo k pomalému vystoupání jednotlivých skvrn, které byly bohužel deformovány.

Proto tuto metodu hodnotím jako neúspěšnou pro stanovení sacharidů v jablečných šťávách nebo mošttech.

3.4.1.2 Vzestupná papírová chromatografie

Chromatografické dělení ve vyvíjecí soustavě ethylacetát-pyridin-voda (v poměru 2:1:5) nebylo úspěšné, došlo k vytvoření tzv. druhého čela, stejně jako tomu bylo u chromatografie na tenké vrstvě. Proto jsem tuto soustavu pro další zkoumání vyřadila i pro papírovou chromatografii.

V případě soustavy butanol-octová kyselina-voda (v poměru 4:1:5 – horní vrstva) bylo náznakem vidět dělení jednotlivých skvrn sacharidů, čelo však nevystoupalo ani po několika hodinách dostatečně vysoko, a proto nedošlo k úplnému rozdělení skvrn.

Z tohoto důvodu, stejně jako v případě chromatografie na tenké vrstvě, hodnotím tuto metodu jako neúspěšnou.

3.4.1.3 Porovnání titračních stanovení a sestupné papírové chromatografie v kombinaci s optickým vyhodnocením

Sestupná papírová chromatografie se jevila vhodnější metodou než obě chromatografie vzestupné. Jak je ale vidět ve výsledcích (viz *Tabulka 1: Výsledky*), ne ve všech případech vyšly správné výsledky.

Stejně tak tomu bylo i u titračního stanovení, kdy se mi úspěšně podařilo stanovit množství redukujících sacharidů po inverzi, ale nastal problém při vyjádření redukujících sacharidů po inverzi.

vzorek	VÝSLEDKY TITRACÍ			VÝSLEDKY SESTUPNÉ PAPÍROVÉ CHROMATOGRRAFIE VYHODNOCENÉ POMOCÍ ImageJ		
	fruktóza [%]	glukóza [%]	sacharóza [%]	fruktóza [%]	glukóza [%]	sacharóza [%]
Bohemia 1	3,67	2,93	-2,67	14,94	3,96	3,26
Golden Delicious 1	6,05	1,94	-0,17	7,68	0,31	-2,05
Idared 1	5,54	1,36	2,08	4,62	-0,83	-2,21
James Grieve 1	9,74	1,26	-0,24	-311,90	-59,79	-24,88
Jonagored 1	15,99	1,84	1,57	11,40	1,49	1,52
Melodie 1	11,44	1,83	-8,78	-105,12	-5,03	-0,27
Melrose 1	6,98	3,05	-4,65	5,00	-1,72	-8,58
Šampion 1	6,35	2,47	-3,48	-169,20	-50,53	-39,12
Topaz 1	4,41	1,28	2,70	16,73	1,85	10,65
Golden Delicious 5	4,61	1,68	-1,67	6,04	0,23	-1,06
Idared 5	8,37	2,50	-0,88	6,11	2,30	2,21
Jonagored 5	6,59	2,14	-2,37	10,23	3,30	3,13
Bohemia 10	3,75	1,35	-2,16	-	-	-
Golden Delicious 10	3,69	0,99	-0,27	-	-	-
Idared 10	1,93	1,07	1,06	-	-	-
Melodie 10	2,47	1,59	-0,72	-	-	-
Šampion 10	3,38	1,47	-0,48	-	-	-

Tabulka 1: Výsledky

S přihlédnutím k titračním výsledkům jsem stanovila poměr mezi fruktózou a glukózou (viz *Tabulka 2: Vyjádření vzájemného poměru sacharidů fruktózy a glukózy*). Jak se ukázalo, vhodnými odrůdami jsou ty, v nichž je vzájemné poměrné číslo vyšší než 4, méně vhodné jsou odrůdy s poměrným číslem mezi 2 a 4 a určitě bych nedoporučila diabetikům konzumovat odrůdy s výsledným poměrným číslem menším než 2.

Nejvhodnějšími odrůdami s vyhovujícím poměrem fruktózy a glukózy byly v lednu: Idared, James Grieve, Jonagored, Melodie a částečně i odrůda Topaz. Z odrůd, které do května vydržely, nebyla vhodná ani jedna odrůda.

Z čerstvé sklizně také není přímo vhodná ani jedna odrůda, ale částečně je možné konzumovat odrůdu Golden Delicious.

odrůda	poměr fruktóza:glukóza	odrůda	poměr fruktóza:glukóza	odrůda	poměr fruktóza:glukóza
Bohemia 1	1,25	Melrose 1	2,29	Bohemia 10	2,77
Golden Delicious 1	3,12	Šampion 1	2,57	Golden Delicious 10	3,74
Idared 1	4,08	Topaz 1	3,44	Idared 10	1,81
James Grieve 1	7,73	Golden Delicious 5	2,74	Melodie 10	1,55
Jonagored 1	8,67	Idared 5	3,34	Šampion 10	2,30
Melodie 1	6,25	Jonagored 5	3,07		

Tabulka 2: Vyjádření vzájemného poměru sacharidů fruktózy a glukózy

4 ZÁVĚR

V této práci jsem se snažila prozkoumat a stanovit množství sacharidů v jednotlivých odrůdách jablek metodami chromatografickými a titračním stanovením.

V první části pokusů jsem se pokusila stanovit koncentrace zkoumaných sacharidů metodou sestupné papírové chromatografie. I když výsledné chromatogramy vypadaly na první pohled celkem dobře z hlediska rozdělení jednotlivých skvrn a vzhledem k porovnání jejich R_F faktorů, nepodařilo se mi pomocí volně dostupného programu ImageJ vyhodnotit správně všechny chromatogramy. Je možné, že došlo ke kumulaci chyb v průběhu pracovního postupu, ale vzhledem k tomu, že jsem získala jak kladné, tak záporné výsledky usuzuji, že mohlo dojít k dalším chybám i v průběhu samotného vyhodnocování v programu ImageJ (např. v průběhu zadávání zkoumané oblasti, ze které program vypočítává optickou hustotu).

V další části pokusů jsem se pokusila stanovit redukující a neredukující sacharidy v jednotlivých vzorcích jablečných moštů metodou Luffa-Schoorla a metodou Auerbacha-Bodländera-Borriese. Vzhledem k náročnosti na přípravu vzorků před samotným stanovením je možné, že jsem hlavně v průběhu přípravy vzorků pro metodu Luffa-Schoorla udělala několik chyb, které se později projeví v průběhu stanovení redukujících sacharidů v tzv. invertním cukru, neboli v roztoku vzorku po inverzi.

Pro budoucí stanovení sacharidů v jablečných odrůdách bych si spíše vybrala osvědčenější metodu stanovení redukujících sacharidů podle Luffa-Schoorla a stanovení glukózy metodu Auerbacha-Bodländera-Borriese. Na druhou stranu, pokud bude známo více možných způsobů stanovení optickou detekcí, je možné, že by došlo k minimalizaci chyb způsobených v průběhu chromatografie, což by se mohlo projevit ve značném urychlení způsobů výpočtů a stanovení koncentrací jednotlivých sacharidů v jablečných šťávách a moštích.

5 LITERATURA

5.1 KNIŽNÍ PUBLIKACE

- 1 BLAŽEK, J.: *Pěstujeme jabloně*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Brázda, 2001. 256 s., 24 s. příloh. ISBN 80-209-0294-5.
- 2 DAVÍDEK, J. a kol.: *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vyd. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury, 1981. 720 s. (144 obr., 144 tab.).
- 3 DVOŘÁK, A., VONDRÁČEK, J., KOHOUT, K., BLAŽEK, J.: *Jablka*. 1. vyd. Praha: Academia, nakladatelství Československé akademie věd, 1976. 592 s. (118 obr., 60 s. příloh).
- 4 DVOŘÁK, A.: *Pěstování jabloní*. 2. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1987. 352 s. (23 tab., 85 obr.)
- 5 GASPARIČ, J., CHURÁČEK, J.: *Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin: laboratorní příručka*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1981. 320 s. (50 obr., 123 tab.).
- 6 HAIS, I. M., MACEK, K.: *Papírová chromatografie*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd, 1954. 724 s. (243 obr., 12 s. příloh).
- 7 CHMEL, K., CVAK, Z., DĚDEK, M., GAJDŮŠKOVÁ, V.: *Chromatografie na tenké vrstvě a její využití pro průkaz cizorodých látek v potravinářství a v zemědělství*. 1. vyd. Praha: Středisko technických informací potravinářského průmyslu Výzkumného ústavu potravinářského průmyslu, 1987. 172 s.
- 8 KOHOUT, K.: *Malá pomologie 1: Jablka*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1960. 270 s.
- 9 KUTINA, J. a kol.: *Pomologický atlas 2*. 1. vyd. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda, 1992. 304 s. ISBN 80-209-0192-2.
- 10 LÁBLER, L., SCHWARZ, V. a kol.: *Chromatografie na tenké vrstvě*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd, 1965. 468s. (128 obr.)
- 11 PINČKA, R.: *Stanovení obsahu cukrů a sušiny v medu pomocí infračervené spektrometrie*. [Diplomová práce]. Liberec 2007. 57 s. Technická univerzita v Liberci. Fakulta pedagogická. Vedoucí diplomové práce: Ing. Jana Müllerová, Ph.D.

- 12 RICHTER, M.: *Velký atlas odrůd ovoce a révy*. 1. vyd. Lanškroun: TG TISK s.r.o., 2002. 158 s. ISBN 80-238-9461-7.
- 13 SUS, J. a kol.: *Obrazový atlas jaderovin: Novější a vybrané starší odrůdy jabloní a hrušní*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Květ, 2000. 100 s. ISBN 80-85362-38-4.
- 14 ŠKÁRKA, B., FERENČÍK, M.: *Biochémia*. 2. přepracované vyd. Bratislava: Alfa – vydavateľstvo technickej a ekonomickej literatúry, 1987. 744 s. (314 obr., 114 tab.)
- 15 VOET, D., VOET, J. G.: *Biochemistry*. New York, Chichester: John Wiley & Sons, 1990.

5.2 ELEKTRONICKÉ ZDROJE

- 16 Articles of Obsil, T. [cit. 25. 10. 2010]. Dostupné z: <http://chemicke-listy.cz/authors/d1e328.html>.
- 17 Bohemia. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/bohemia.htm>.
- 18 Diabetes 1. typu. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/podrobnosti-o-nemoci/87-diabetes-1typu>.
- 19 Diabetes 2. typu. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/podrobnosti-o-nemoci/88-diabetes-2typu>.
- 20 Diabetické diety | Edukace | Abbott Česká republika. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.abbottdiabetescare.cz/edukace/diabeticke-diety.html>.
- 21 Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices - Analytical Chemistry (ACS Publications). [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac9013989>.
- 22 Golden Delicious. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/golden_d.htm.
- 23 Idared. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/idared.htm>.
- 24 Inzulín jako lék-3 | Rok I. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.rok1.cz/inzulin-jako-lek-3/>.

- 25 Jonagored. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/jonagored.htm>.
- 26 Melodie. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/melodie.htm>.
- 27 Nové postupy v léčbě diabetu | Rok I. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.rok1.cz/nove-postupy-v-lecbe-diabetu/>.
- 28 Nové postupy v léčbě diabetu-2 | Rok I. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.rok1.cz/nove-postupy-v-lecbe-diabetu-2/>.
- 29 Nové postupy v léčbě diabetu-3 | Rok I. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.rok1.cz/nove-postupy-v-lecbe-diabetu-3/>.
- 30 Ovocnářská výroba | Korelace změn kvalitativních parametrů jablek během skladování | zahradaweb.cz, časopis zahradnictví. [cit. 18. 11. 2010]. Dostupné z: http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Korelace-zmen-kvalitativnich-parametru-jablek-behem-skladovani_s513x45081.html.
- 31 Ovocnářská výroba | Výběr nejvhodnějších hnojiv pro výsadby jabloní | zahradaweb.cz, časopis zahradnictví. [cit. 2. 12. 2010]. Dostupné z: http://www.zahradaweb.cz/Vyber-nejvhodnejsich-hnojiv-pro-vysadby-jablone_s513x41841.html.
- 32 Popisy odrůd - Jabloně. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <http://www.sempra.cz/odrudy/ovoce/popisy/jablone.htm>.
- 33 Porucha funkce trávicího ústrojí. [cit. 11. 11. 2010]. Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/jak-poskozuje-jednotlive-casti-tela/85-porucha-funkce-traviciho-ustroji>.
- 34 Poruchy erekce při diabetu. [cit. 11. 11. 2010]. Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/jak-poskozuje-jednotlive-casti-tela/91-poruchy-erekce-pri-diabetu>.
- 35 Postižení cév při diabetu – diabetická angiopatie. [cit. 11. 11. 2010]. Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/jak-poskozuje-jednotlive-casti-tela/84-postizeni-cev-pri-diabetu>.
- 36 Postižení dolních končetin – diabetická noha. [cit. 11. 11. 2010]. Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/jak-poskozuje-jednotlive-casti-tela/89-postizeni-dolnich-koncetin-diabeticka-noha>.
- 37 Postižení nervů při diabetu – diabetická neuropatie. [cit. 11. 11. 2010]. Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/jak-poskozuje-jednotlive-casti-tela/83-postizeni-nervu-pri-diabetu>.

- 38 Postižení očí u diabetu – diabetická retinopatie. [cit. 11. 11. 2010].
Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/jak-poskozuje-jednotlive-casti-tela/86-postizeni-oci-u-diabetu>.
- 39 Poškození ledvin při diabetu – diabetická nefropatie. [cit. 11. 11. 2010].
Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/jak-poskozuje-jednotlive-casti-tela/90-poskozeni-ledvin-pri-diabetu>.
- 40 Pyramida odhalila pětatřicet potencionálních diabetiků! [cit. 28. 10. 2010].
Dostupné z: <http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/lecba/121-pyramida-odhalila-petatricet-potencionalnich-diabetiku>.
- 41 ScienceDirect - Food Hydrocolloids : Effect of clouding agents on the quality of apple juice during storage. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6VP9-5057KXH-3&_user=640831&_coverDate=01%2F31%2F2011&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1502672697&_rerunOrigin=google&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&md5=25ad23296c0c2cc7cf6b10b7e64ad4d3&searchtype=a.
- 42 ScienceDirect - Food Hydrocolloids : Effect of typical sugars on the viscosity and colloidal stability of apple juice. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6VP9-4S32NRY-2&_user=640831&_coverDate=03%2F31%2F2009&_alid=1502629769&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=6201&_sort=r&_st=13&_docanchor=&view=c&_ct=69129&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&md5=3468e1a287bd3fb0ee6bff21d57b4ce8&searchtype=a.
- 43 ScienceDirect - Food Chemistry : Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6R-470TYP4-F&_user=640831&_coverDate=01%2F31%2F2003&_alid=1502567362&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=5037&_st=13&_docanchor=&view=c&_ct=801&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&md5=c83ea9e24f876f159f5ff1a7327b6cf2&searchtype=a.

- 44 ScienceDirect - Food Chemistry : Chemical compositional characterization of some apple cultivars. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6R-4M27X8X-5&_user=640831&_coverDate=12%2F31%2F2007&_alid=1502640598&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=5037&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=2118&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&_md5=4fff55f917fe33c429f2d32612d0ff8d&searchtype=a.
- 45 ScienceDirect - Innovative Food Science & Emerging Technologies : Comparative study on cloudy apple juice qualities from apple slices treated by high pressure carbon dioxide and mild heat. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6W6D-4X97D0N-1&_user=640831&_coverDate=01%2F31%2F2010&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1502668903&_rerunOrigin=google&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&_md5=3106861f9c68fc172ba85f3beec60109&searchtype=a.
- 46 ScienceDirect - International Journal of Diabetes Mellitus : Chronic complications of diabetes mellitus in newly diagnosed patients. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B985X-4XDCTGW-1&_user=640831&_coverDate=04%2F30%2F2010&_alid=1502699453&_rdoc=8&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=59110&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=172054&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&_md5=41385838293cd7f66cf1b5614fc0cec8&searchtype=a.
- 47 ScienceDirect - Journal of Food Composition and Analysis : Characterization of Commercially Produced Apple Juice Concentrate. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WJH-45PV5XN-6&_user=640831&_coverDate=03%2F31%2F1996&_alid=1502640598&_rdoc=2&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=6879&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=2118&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&_md5=480cc5adf857666d5b153d4bbf6d3a91&searchtype=a.

- 48 ScienceDirect - Journal of Food Composition and Analysis : The partial compositional characteristics of apple juice from 175 apple varieties. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WJH-4CPVKSF-1&_user=640831&_coverDate=05%2F31%2F2005&_alid=1502640598&_rdoc=3&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=6879&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=2118&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&_md5=38a675fb86edb7f45f0201cd1a4f882c&_searchtype=a.
- 49 ScienceDirect - Journal of Chromatography A : Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TG8-4299Y5C-9&_user=640831&_coverDate=03%2F02%2F2001&_alid=1502636786&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=5248&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=2194&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&_md5=e5ed1c55cebab4379a710d46993f7e6a&_searchtype=a.
- 50 ScienceDirect - Nutrition : Diet and exercise in type 2 diabetes mellitus. [cit. 18. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TB0-3STFFYV-2&_user=640831&_coverDate=02%2F28%2F1997&_alid=1502742485&_rdoc=41&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=5128&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=46134&_acct=C000034259&_version=1&_urlVersion=0&_userid=640831&_md5=b8a6994548c869fcdd5d32c9388d16ee&_searchtype=a.
- 51 ScienceDirect - Pathologie Biologie : The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies. [cit. 25. 10. 2010]. Dostupné z: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6W8H-4XMC01D-R&_user=10&_coverDate=06%2F30%2F2010&_alid=1511765664&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=6655&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=11642&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&_md5=80ff044fb0a37f06fe9f22de0d2f2f1c&_searchtype=a.

- 52 Slovníček diabetika. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z:
<<http://www.zivotsdiabetem.cz/slovnicek-diabetika>>.
- 53 Šampion. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/sampion.htm>>.
- 54 Topaz. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/web/web-sispo/odrudy/jabl/topaz.htm>>.
- 55 Typy cukrovky. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z:
<<http://www.zivotsdiabetem.cz/co-je-diabetes/podrobnosti-o-nemoci/73-typy-cukrovky>>.
- 56 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. [cit. 4. 12. 2010].
Dostupné z: <<http://www.ukzuz.cz/Articles/4178-2-Seznam+odrud+zapsanych+ve+Statni+odrudove+knize+.aspx>>.
- 57 Užitečné tipy a rady | Rok I. [cit. 28. 10. 2010]. Dostupné z:
<<http://www.rok1.cz/uzitecne-tipy-a-rady/>>.
- 58 Víťame Vás na stránkách OVOCNÁŘSKÉ UNIE ČR. [cit. 28. 10. 2010].
Dostupné z: <<http://www.ovocnarska-unie.cz/jablko.php>>.

6 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1: Schéma stavby jabloně ¹	14
Obrázek 2: Základní přirozené tvary korun jabloní ¹	15
Obrázek 3: Druhy plodonosného dřeva jabloně ¹	16
Obrázek 4: Podélný a příčný řez jablkem ¹	17
Obrázek 5: Hlavní tvary jablek ¹	17
Obrázek 6: Bohemia	23
Obrázek 7: Gold Bohemia	23
Obrázek 8: Golden Delicious	24
Obrázek 9: Golden Delicious	24
Obrázek 10: Idared	25
Obrázek 11: Idared	25
Obrázek 12: James Grieve	26
Obrázek 13: Jonagored	27
Obrázek 14: Jonagored	27
Obrázek 15: Melodie - trs plodů	27
Obrázek 16: Melodie	28
Obrázek 17: Melodie	28
Obrázek 18: Melrose	29
Obrázek 19: Melrose	29
Obrázek 20: Šampion	30
Obrázek 21: Šampion	30
Obrázek 22: Šampion	30
Obrázek 23: Topaz	31
Obrázek 24: Topaz	31
Obrázek 25: Topaz	31
Obrázek 26: Rovnovážné složení roztoků D-glukózy ¹¹	34
Obrázek 27: Oxidace glukózy měďnatými ionty	35
Obrázek 28: Rovnovážné složení roztoků D-fruktózy	36
Obrázek 29: Schéma hydrolýzy sacharózy	36
Obrázek 30: Katechin	38
Obrázek 31: Filtrace moštů	55
Obrázek 32: Filtrace moštů	55
Obrázek 33: Chvostování chromatogramu	58
Tabulka 1: Výsledky	65
Tabulka 2: Vyjádření vzájemného poměru sacharidů fruktózy a glukózy	66

7 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha č. 1: Plánek sadu s rozmístěním jednotlivých odrůd*
- Příloha č. 2: Satelitní snímek sadu*
- Příloha č. 3: Grafické zpracování vzorků a standardů s ohledem na R_F faktor*
- Příloha č. 4: Tabulka a graf závislosti množství redukujících sacharidů [mg] na spotřebě thiosíranu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) [ml] metodou Luffa-Schoorla*
- Příloha č. 5: Tabulka závislosti množství redukujících sacharidů [mg] na spotřebě thiosíranu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) [ml] metodou Luffa-Schoorla – interpolace*
- Příloha č. 6: Vyhodnocení chromatogramu se závislostí optické hustoty na koncentraci roztoku*
- Příloha č. 7: Vyhodnocení chromatogramu se závislostí optické hustoty na koncentraci roztoku*
- Příloha č. 8: Vyhodnocení chromatogramu se závislostí optické hustoty na koncentraci roztoku*
- Příloha č. 9: Vyhodnocení chromatogramu se závislostí optické hustoty na koncentraci roztoku*
- Příloha č. 10: Experimentální dotazníky (25 ks)*
- Příloha č. 11: Tabulky četností odpovědí v dotaznících a jejich přepočet na procenta*
- Příloha č. 12: Výřezy vyfotografovaných chromatogramů vyhodnocené programem ImageJ*