



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**APLIKACE BYLINNÉHO EXTRAKTU DO  
NEČOKOLÁDOVÝCH ŽELÉ CUKROVINEK**

APPLICATION OF HERBAL EXTRACT TO NON-CHOCOLATE JELLY SWEETS

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Lan Anh Phi**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

**BRNO 2022**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1719/2021 Akademický rok: 2021/22  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Bc. Lan Anh Phi**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Aplikace bylinného extraktu do nečokoládových želé cukrovinek

### Zadání diplomové práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
  - želé cukrovinky – sensorické vlastnosti, těkavé (aromatické) látky a jejich stanovení
  - vybrané rostlinné materiály – obsažené aromatické látky a látky s antioxidačním potenciálem
- Ověřte vybrané validační parametry metody stanovení alergenních vonných látek.
- Vyrobte modelové vzorky želé cukrovinek s přidavkem rostlinných extraktů.
- Posudte antioxidační potenciál, profil těkavých látek – s důrazem na alergeny – a celkovou sensorickou kvalitu vyrobených vzorků.
- Vyrobené cukrovinky srovnajte s komerčními vzorky cukrovinek obdobného typu.

### Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

-----  
Bc. Lan Anh Phi  
studentka

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.  
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá optimalizací aplikace bylinných extraktů a „prášků“ (sušené rozdrčené byliny) do želé cukrovinek a jejich srovnáním s komerčními výrobky obdobné příchutě. Vyrobené a komerční vzorky byly následně charakterizovány z hlediska těkavých látek, celkového obsahu fenolických látek, antioxidační aktivity a senzoričké kvality.

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS, ověření validačních parametrů metody (limit detekce a stanovitelnosti, opakovatelnost, reprodukovatelnost, retenční čas, retenční index) bylo součástí práce. Pro stanovení celkového obsahu fenolických látek byla použita Folin-Cicalteuova spektrofotometrická metoda, antioxidační aktivity metoda TEAC a senzoričké kvality senzoričká analýza.

Optimální množství extraktu a prášku bylo vybráno na základě senzoričké analýzy. Pro přípravu extraktů a prášků byly použity aromatické rostliny meduňka (*Melissa officinalis*) a zázvor (*Zingiber officinale*). Optimálním přídatkem extraktu byla zvolena koncentrace 15 %, další senzoričkou analýzou bylo zvoleno 1 % přídatku prášku pro obě byliny.

V modelovém meduňkovém želé bylo identifikováno 32 těkavých látek, z čehož byly 4 alergeny (linalool, Z a E isomer citralu, citronellol, Z a E isomer geraniolu). Celkový obsah fenolických látek ve vzorku byl  $755,5 \pm 14,3 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  a antioxidační aktivita byla stanovena na hodnotu  $2,73 \pm 0,13 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ . Komerční meduňkový vzorek obsahoval 54 aromatických látek a z toho 5 alergenů – limonen, linalool, Z a E isomer citralu, citronellol, Z a E isomer geraniolu. Celkový obsah fenolických látek byl  $695,5 \pm 9,8 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  a antioxidační aktivita byla  $2,67 \pm 0,05 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ .

V modelovém zázvorovém želé bylo identifikováno 26 těkavých látek, z čehož byly 4 alergeny (linalool, Z a E isomer citralu, citronellol, (Z)-geraniol). Celkový obsah fenolických látek ve vzorku byl  $511,0 \pm 12,3 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  a antioxidační aktivita byla stanovena na hodnotu  $1,87 \pm 0,16 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ . První komerční zázvorový vzorek obsahoval 55 aromatických látek a z toho 4 alergeny (limonen, linalool, citronellol, (E)-geraniol). Celkový obsah fenolických látek ve vzorku byl  $224,3 \pm 20,2 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  a antioxidační aktivita byla stanovena na hodnotu  $0,95 \pm 0,24 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ . Druhý zázvorový komerční vzorek obsahoval 32 těkavých látek, z toho byly 4 alergeny – limonen, linalool, Z a E isomer citralu a (E)-geraniol. Celkový obsah fenolických látek byl  $569,9 \pm 23,2 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  a antioxidační aktivita vzorku byla  $3,48 \pm 0,08 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ .

Z hlediska senzoričkých vlastností byly hodnotiteli upřednostňovány vyrobené vzorky, které měly vyváženou sladkou a kyselou chuť, s příjemnou optimální bylinnou chutí.

## KLÍČOVÁ SLOVA

cukrovinky, zázvor, meduňka, aromatické látky, antioxidanty, senzoričká analýza, SPME, GC-MS

## ABSTRACT

This master's thesis focuses on optimization of application of herbal extracts and powder into jelly sweets and comparing them to commercial products with a same flavour. Prepared and commercial samples were then characterized in terms of volatile substances, total phenolic content, antioxidant activity and sensory quality.

Volatile compounds were determined by HS-SPME-GC-MS method, a verification of validation parameters (limit of detection and quantification, repeatability, reproducibility, retention time, retention index) was part of the thesis. The total phenolic content was determined by Folin-Cicalteu's spectrophotometric method, antioxidant activity by TEAC method and sensory quality by sensory analysis.

Optimal amount of extracts and powders were selected based on the sensory analysis. For the preparation of extracts and powders were used aromatic plants lemon balm (*Melissa officinalis*) and ginger (*Zingiber officinale*). Optimal amount of extract addition was the concentration 15 %, by the next sensory analysis was determined 1 % addition of the powder for both herbs.

There were 32 volatile compounds identified in a model lemon balm jelly, which of 4 were allergens (linalool, Z and E isomer of citral, citronellol, Z and E isomer of geraniol). Total phenolic content in the sample was  $755,5 \pm 14,3 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  and antioxidant activity was determined on a value  $2,73 \pm 0,13 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ . Commercial lemon balm sample contained 54 aromatic compounds from which were 5 allergens – limonene, linalool, Z and E isomer of citral, citronellol, Z and E isomer of geraniol. Total phenolic content was  $695,5 \pm 9,8 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  and antioxidant activity was  $2,67 \pm 0,05 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ .

There were 26 volatile compounds identified in the model ginger jelly, which of 4 were allergens (linalool, Z and E isomer of citral, citronellol, (Z)-geraniol). Total phenolic content in the sample was  $511,0 \pm 12,3 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  and antioxidant activity was determined on a value  $1,87 \pm 0,16 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ . The first commercial ginger sample contained 55 aromatic compounds and 4 of them were allergens (limonene, linalool, citronellol, (E)-geraniol). Total phenolic content in the sample was  $224,3 \pm 20,2 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  and antioxidant activity was determined on a value  $0,95 \pm 0,24 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ . The second commercial sample contained 32 volatile compounds, which of were 4 allergens – limonene, linalool, Z and E isomer of citral and (E)-geraniol. Total phenolic content was  $569,9 \pm 23,2 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  and antioxidant activity of the sample was  $3,48 \pm 0,08 \cdot 10^{-3} \text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ .

In terms of sensory properties, the prepared samples which had balanced sweet and sour taste with pleasurable optimal herbal taste, were preferred by evaluators.

## KEYWORDS

sweets, ginger, lemon balm, aroma compounds, antioxidants, sensory analysis, SPME, GC-MS

PHI, Lan Anh. *Aplikace bylinného extraktu do nečokoládových želé cukrovinek* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138883>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce doc. Ing. Eva Vítová Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
podpis studenta

### *Poděkování:*

*Na tomto místě bych ráda poděkovala paní doc. Ing. Evě Vítové Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi dávala v průběhu psaní a tvorby diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Michalovi Grossovi za rady a pomoc v laboratoři.*

## OBSAH

1	ÚVOD .....	10
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	11
2.1	Nečokoládové cukrovinky .....	11
2.1.1	Suroviny pro výrobu želé cukrovinek.....	12
2.1.1.1	Přírodní a umělá sladidla .....	12
2.1.1.2	Želírující látky.....	15
2.1.1.3	Lešticí látky.....	16
2.1.1.4	Barviva.....	17
2.1.1.5	Aromata.....	17
2.1.1.6	Látky upravující kyselost.....	18
2.1.2	Technologie výroby želé cukrovinek.....	18
2.1.2.1	Cukrovinky s nevykrytalizovanou sacharózou.....	19
2.1.2.2	Cukrovinky s vykrytalizovanou sacharózou .....	19
2.2	Charakteristika použitých rostlinných materiálů .....	20
2.2.1	Meduňka lékařská ( <i>Melissa officinalis</i> ) .....	20
2.2.1.1	Aromatické látky meduňky.....	20
2.2.1.2	Bioaktivní látky meduňky.....	21
2.2.2	Zázvor lékařský ( <i>Zingiber officinale</i> ) .....	21
2.2.2.1	Aromatické látky zázvoru.....	21
2.2.2.2	Bioaktivní látky zázvoru.....	22
2.3	Alergenní vonné látky .....	22
2.4	Metody stanovení vonných a chuťových látek v cukrovinkách .....	25
2.4.1	Head-space metody .....	25
2.4.2	Mikroextrakce tuhou fází .....	26
2.4.3	Plynová chromatografie .....	27
2.4.3.1	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí.....	27
2.4.4	Stanovení vonných a chuťových látek v cukrovinkách a bylinných extraktech. 27	
2.5	Metody stanovení bioaktivních látek.....	28
2.5.1	Metody založené na eliminaci radikálů .....	28
2.5.1.1	Metoda TEAC.....	28
2.5.1.2	Metoda využívající DPPH .....	28
2.5.2	Metody založené na přenosu nepárového elektronu.....	29

2.5.3	Metody založené na přenosu vodíkového atomu .....	29
2.5.4	Metody stanovení celkového obsahu fenolů .....	29
2.5.5	Stanovení bioaktivních látek v cukrovinkách a bylinných extraktech .....	29
2.6	Senzorická analýza .....	30
2.6.1	Podmínky senzorické analýzy .....	30
2.6.2	Metody pro senzorickou analýzu .....	30
2.6.2.1	Diskriminační zkoušky .....	31
2.6.2.2	Deskriptivní zkoušky .....	31
2.6.2.3	Metody s použitím stupnic .....	31
2.6.3	Senzorická analýza nečokoládových cukrovinek .....	31
2.7	Validace analytických metod .....	32
2.7.1	Specifita měření .....	32
2.7.2	Preciznost měření .....	32
2.7.3	Pravdivost měření .....	32
2.7.4	Limit detekce .....	32
2.7.5	Limit stanovitelnosti .....	33
2.7.6	Linearita měření .....	33
2.7.7	Robustnost měření .....	33
2.7.8	Nejistota měření .....	33
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	34
3.1	Laboratorní vybavení a chemikálie .....	34
3.1.1	Chemikálie .....	34
3.1.2	Plyny .....	34
3.1.3	Pracovní pomůcky .....	35
3.1.4	Přístroje .....	35
3.1.5	Suroviny pro výrobu cukrovinek .....	35
3.2	Analyzované vzorky .....	35
3.3	Použité metody a experimentální postupy .....	37
3.3.1	Metoda HS-SPME-GC-MS .....	37
3.3.1.1	Podmínky HS-SPME extrakce .....	38
3.3.1.2	Podmínky GC-MS analýzy .....	38
3.3.2	Ověření validačních parametrů HS-SPME-GC-MS metody .....	38
3.3.2.1	Stanovení linearity .....	38

3.3.2.2	Stanovení limitů detekce a stanovitelnosti.....	38
3.3.2.3	Stanovení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti metody .....	38
3.3.3	Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity .....	39
3.3.3.1	Příprava kalibrační křivky (standard Trolox) .....	39
3.3.4	Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu fenolů .....	39
3.3.4.1	Příprava kalibrační křivky (standard kyselina gallová) .....	40
3.3.5	Senzorická analýza.....	40
3.3.6	Statistické vyhodnocení výsledků .....	41
4	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	43
4.1	Výrobní postup želé cukrovinek .....	43
4.1.1	Příprava a postup výroby želé.....	43
4.1.2	Příprava a postup výroby bylinných extraktů a zázvorového prášku .....	43
4.2	Optimalizace aplikace bylinných extraktů a jejich vliv na senzorickou kvalitu....	44
4.2.1	Želé cukrovinky s meduňkovým extraktem .....	45
4.2.2	Želé cukrovinky se zázvorovým extraktem .....	47
4.3	Optimalizace aplikace sušených bylin a jejich vliv na senzorickou kvalitu .....	50
4.3.1	Želé cukrovinky s meduňkovým práškem .....	51
4.3.2	Želé cukrovinky se zázvorovým práškem.....	53
4.4	Senzorické srovnání vyrobených želé cukrovinek s komerčními .....	57
4.4.1	Senzorické srovnání meduňkových cukrovinek .....	57
4.4.2	Senzorické srovnání zázvorových cukrovinek.....	61
4.5	Charakterizace bylinných extraktů .....	66
4.5.1	Identifikace těkavých látek v extraktech.....	67
4.5.2	Stanovení celkového obsahu fenolů v bylinných extraktech .....	73
4.5.3	Stanovení antioxidační aktivity bylinných extraktů.....	74
4.6	Charakterizace vyrobených želé cukrovinek a komerčních výrobků .....	75
4.6.1	Ověření validačních parametrů HS-SPME-GC-MS metody .....	75
4.6.2	Identifikace těkavých látek ve vzorcích cukrovinek.....	80
4.6.2.1	Identifikované těkavé látky v meduňkových cukrovinkách .....	80
4.6.2.2	Identifikované těkavé látky v zázvorových cukrovinkách.....	86
4.6.3	Stanovení celkového obsahu fenolů ve vzorcích cukrovinek .....	93
4.6.4	Stanovení antioxidační aktivity vzorků cukrovinek.....	94
5	ZÁVĚR.....	96



6	SEZNAM LITERÁRNÍCH ZDROJŮ .....	98
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	105
8	SEZNAM PŘÍLOH.....	107
9	PŘÍLOHY.....	108

# 1 ÚVOD

V dnešní době se životní styl navrácí zpět ke konzumaci kvalitních potravin, které obsahují nejen základní nutriční hodnoty, ale obsahují i něco navíc, co může přinést zdravotní benefity. Zároveň se ustupuje od využívání synteticky vytvořených aromat a barviv v potravinářství kvůli možným negativním vlivům a upřednostňují se více produkty označené jako „přírodní, bez přídavku syntetických látek.“

Jednou z možností, jak vytvořit ideální potravinu, která by vyhovovala ve všech vlastnostech, je ji obohatit. V tomto případě se nabízí byliny, které se po staletí používají v tradiční medicíně díky přirozenému vysokému obsahu bioaktivních látek a zároveň aromatickému charakteru. Ideální matricí bioaktivních látek z bylin jsou pak cukrovinky, které jsou oblíbené napříč věkem a pohlavím.

Aplikace bylin do cukrovinek jakožto nositele chutě, vůně a často i mnoha barevných odstínů řeší problematiku užívání syntetických aromat a barviv, zároveň by se docílilo příjemné přirozené chuti bez umělé pachuti, kterou některé cukrovinky mají.

Využití rostlin má však i stinné stránky, kterými jsou těkavé alergenů. V tuto chvíli je na seznamu zařazeno 25 těkavých alergenů, které mohou u citlivých osob způsobit různé negativní reakce jako je např. alergie, při konzumaci určitého množství potravin obsahující alergen. Momentálně neexistuje zákon, který by nařizoval uvedení alergenů ve složení výrobků na obalu. Povinné je to pouze u kosmetických produktů při překročení stanovené koncentrace.

Výrobou nečokoládových cukrovinek se zabývá tato diplomová práce, jejíž cílem bylo vyrobit modelové vzorky s aplikovanými bylinami ve formě extraktů a prášku, aby byly chutné, ale přinášely zdravotní benefity. Pro aplikaci byly vybrány meduňka a zázvor, které se běžně užívají ve formě čajů nebo také jako koření. Obě byliny jsou známy pro své léčivé účinky a příjemné (i když pro někoho může být nepříjemné) aroma. Vyrobene vzorky cukrovinek byly podrobeny sensorické analýze a chemickým analýzám, pomocí kterých byl stanoven obsah fenolů, antioxidantů a těkavých látek. Hlavním záměrem bylo zjistit, zda bude mít přídavek extraktů/prášků vliv na uvedené parametry.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

Diplomová práce je zaměřena na aplikaci bylinných extraktů do nečokoládových želé cukrovinek. Teoretická část zahrnuje stručnou charakteristiku nečokoládových cukrovinek se zaměřením na cukrovinky typu želé. Součástí je i charakterizace rostlinného materiálu, který byl použit pro výrobu extraktů, a to především z hlediska aromatických látek a antioxidační aktivity.

Dále jsou popsány metody vhodné pro stanovení antioxidační aktivity a aromaticky aktivních látek v připravených extraktech a cukrovinkách. Zároveň je shrnuta problematika vonných látek, které jsou označeny legislativou za alergenní.

Závěr je věnován metodám senzorické analýzy.

### 2.1 Nečokoládové cukrovinky

Nečokoládové cukrovinky dle legislativy (vyhláška č. 76/2003 Sb.) nesmí obsahovat více jak 5 % kakaových součástí. Zároveň jsou rozděleny touto vyhláškou do dvou kategorií, kde první skupinu tvoří cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharózou a druhou cukrovinky s vykrystalizovanou sacharózou. Podrobnější rozdělení do skupin a podskupin je uvedeno ve vyhlášce v příloze č. 4 (viz Tab. 1). Definice jednotlivých skupin jsou v Tab. 2.

Tab. 1 Rozdělení nečokoládových cukrovinek [1]

Druh	Skupina	Podskupina
Cukrovinky	Karamely	Tukové s jádrovinami, s ovocnou příchutí, mléčné, kakaové nebo kávové, podle druhu vložky (cukrová, želé, jádroviny, sušené ovoce nebo proslazené, marcipán a další)
	Dražé	
	Želé	
	Rahat, chalva, turecký med	
	Lékořicové cukrovinky	
	Pěnové cukrovinky (marshmallow)	
	Komprimáty	
	Žvýkačky	Balónkové (bubble gum), plátkové, dražované
	Dropsy	
	Roksy	
	Furé	s tukovou náplní, s cukernou (sirupovou) náplní
	Marcipán	
	Fondánové cukrovinky	

Tab. 2 Definice jednotlivých skupin nečokoládových cukrovinek [1]

Skupina	Definice
Karamely	Cukrovinky tvárné konzistence, do určité míry žvýkavé, s různou příchutí.
Dražé	Cukrovinky tužší až tvrdé konzistence s různými vložkami, s náblem zejména cukru.
Želé	Cukrovinky s konzistencí gelu vzniklou přidáním želírujících látek, zejména pektinu, agaru, škrobu nebo želatiny.
Rahat	Škrobové želé různých tvarů obalených směsí práškového cukru a škrobu.
Chalva	Šlehaná kandytová hmota s pěnotvornou látkou pastovité konzistence, popřípadě s přidáním suchých skořápkových plodů a tuku.
Turecký med	Šlehaný cukrosirupový roztok s bílkem, popřípadě s přidáním suchých skořápkových plodů.
Lékořicové cukrovinky	Cukrovinky ze směsi cukru, glukózového sirupu a mouky, popřípadě dalších surovin, jejichž charakteristickou složku tvoří výtažek z lékořice.
Pěnové cukrovinky (marshmallow)	Cukrovinky lehčené, pěnovité, žvýkavé konzistence, popřípadě s jemnými částicemi směsi práškového cukru nebo škrobu anebo jejich kombinací.
Komprimáty	Cukrovinky vyráběné lisováním ochucených a obarvených práškovitých směsí, zejména ve tvaru čoček nebo tablet.
Žvýkačky	Cukrovinka výrazně gumovité až tažné konzistence s různými příchutěmi.
Dropsy	Cukrovinky neplněné, z kandytové hmoty, složené převážně z cukrů a glukózového sirupu, různě tvarované, různé barvy a chuti, tvrdé konzistence.
Roksy	Cukrovinky tvrdé konzistence podobné dropsům, ve tvaru špalíček, tyčinek nebo lízátek, které mohou mít na průřezu barevné obrazce z ochucených kandytových hmot.
Furé	Cukrovinky z kandytové hmoty, na povrchu matné, sklovité, tvrdé konzistence obsahující uvnitř minimálně 13 % polotuhé nebo tekuté náplně.
Marcipán	Cukrovinky polotuhé konzistence, různých tvarů vyrobené z nejméně 1 dílu surové marcipánové hmoty (sestavující nejméně z 50 % loupáných mandlí a nejvýše 50 % cukru) a nejvýše 1 dílu cukrové moučky, popřípadě přibarvené, upravené na povrchu sypáním, zdobením či polevou.
Fondánové cukrovinky	Cukrovinky polotuhé až tuhé konzistence z cukerné hmoty, popřípadě s přidáním dalších látek s jemnou krystalickou strukturou.

## 2.1.1 Suroviny pro výrobu želé cukrovinek

### 2.1.1.1 Přírodní a umělá sladidla

Nejběžněji užívaným sladidlem v cukrovinkách je sacharóza, která patří mezi přírodní sladidla, podle vyhlášky č. 76/2003 (viz Tab. 3) [1], [2]. Přírodní sladidla zároveň aktivují dopaminergní oblast středního mozku a striatum, které jsou součástí oblasti systému odměn v mozku [3]. V jednoduchosti nám dodávají pocit chuťové plnosti [2].

V České republice se získává sacharóza především z cukrové řepy, kde tvoří 16-20 % [4]. Poskytuje typickou chuť, zvyšuje energetickou hodnotu a zpevňuje strukturu cukrovinek [2], [4]. Pro některé osoby je však sacharóza a další přírodní cukry nevhodná, jedná se o osoby s poruchou metabolismu sacharidů, především diabetes mellitus [4]. Používají se proto náhradní sladidla [4]. Seznam těchto alternativ sacharózy je spravován nařízením EU (Nařízení Komise (EU) č. 1333/2008), kde jednotlivé náhrady mají přiřazen tzv. E kód [5].

Náhradní sladidla však nejsou užívána pouze diabetiky, ale také lidmi, kteří nemají problémy s metabolismem glukózy [6]. Příčinou jsou vedlejší účinky nadměrné konzumace jako je tloušťnutí nebo kazivost zubů [6]. S tím však přicházejí i zdravotní komplikace některých náhradních sladidel (aspartam, acesulfam K, cyklamát, sacharin, sukralóza, neotam, rebaudiosid A), které byly pozorovány především na zvířatech, patří sem různé druhy rakoviny nebo narušení střevního mikrobiomu [7]. U lidí byly upozorovány bolesti hlavy, nevolnost nebo hepatotoxicita [7]. Zároveň také mohou být přímou příčinou obezity [6], [7].

Tab. 3 Přírodní sladidla dle vyhlášky č. 76/2003 [1]

Typ sladidla	Definice
Cukr	Vyčištěná krystalizovaná sacharóza upravená zejména do krystalů, moučky, kostek, homolí, popř. doplněná přídatnými látkami, látkami určenými k aromatizaci nebo kořením.
Tekutý cukr	Vodný roztok sacharózy.
Tekuté výrobky z cukru	Výrobky na bázi vodných roztoků sacharózy splňující požadavky uvedené v příloze č. 2 bodě 2.
Tekutý invertní cukr	Vodný roztok sacharózy částečně invertované hydrolyzou, v němž nepřevažuje podíl invertního cukru a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 2.
Sirup z invertního cukru	Vodný roztok sacharózy (s možnou krystalizací), která byla částečně invertována hydrolyzou, přičemž obsah invertovaného cukru musí být vyšší než 50 % hm. sušiny a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 2.
Glukózový sirup	Vyčištěný koncentrovaný vodný roztok cukrů vhodných k výživě člověka, získaných ze škrobu nebo inulinu, nebo jejich kombinací a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 5.
Sušený glukózový sirup	Částečně vysušený glukózový sirup s nejméně 93 % hmotnostních sušiny a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 6.
Dextróza (monohydrát nebo bezvodá)	Vyčištěná krystalizovaná D-glukóza s jednou molekulou krystalové vody (monohydrát) nebo bezvodá a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 3.
Fruktóza	Vyčištěná krystalizovaná D-fruktóza, splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 4.

### Cukerné alkoholy

Jedná se o běžnou náhradu sacharózy v cukrovinkách pro diabetiky [2], [4]. Mají řadu vlastností jako je již zmíněná nižší energetická hodnota nebo snížená schopnost kazivosti zubů [2]. Další výhodou je vyšší bod varu a chybějící aldehydová skupina, díky které nepodléhají

Maillardově reakci, jejíž průběh je nežádoucí v některých druzích cukrovinek [2]. Nevýhodou je nižší sladivost, s výjimkou xylitolu, a vyšší pořizovací cena [2].

V následující tabulce (Tab. 4) jsou vypsány cukerné alkoholy, které jsou povoleny v rámci EU [5].

Tab. 4 Cukerné alkoholy [2], [5], [8]

Název	E kód	Vlastnosti
Sorbitol	E 420	Vyrábí se redukcí glukózy. Separuje se v roztoku od mannitolu díky vyšší rozpustnosti. Má cca 60% sladivost sacharózy.
Mannitol	E 421	Vyrábí se redukcí glukózy v roztoku. Jeho izomerem je sorbitol, který má jinou rozpustnost. Má cca 50% sladivost sacharózy.
Isomalt	E 953	Vlastnostmi podobný sacharóze, s nižší hygroskopicitou a vysokou stabilitou vůči chemické a enzymatické hydrolýze. Odpovídá cca 45-60 % sladivostí sacharózy.
Maltitol	E 965	Jedná se o redukovanou maltózu. Kvalitní náhrada, co se týče fyzikálních vlastností i 85-95 % sladivostí sacharózy.
Laktitol	E 966	Vzniká hydrogenací laktózy. Má probiotické vlastnosti. Sladivost se zvyšuje s koncentrací.
Xylitol	E 967	Vyrábí se chemickou konverzí xylanu. Sladivostí je velmi podobný sacharóze.
Erythritol	E 968	Přírodní látka komerčně produkována pomocí enzymů houby <i>Moniliella pollinis</i> . Má cca 65% sladivost sacharózy.

### Syntetická sladidla

Syntetická sladidla jsou látky, které mají velice intenzivní sladkou chuť, a proto se přidávají ve velmi malém množství [2]. Často jsou míchány s cukernými alkoholy, které chuť zjemňují a zároveň mohou maskovat nahořklou chuť některých sladidel tohoto druhu [2], [8].

Nejnověji povolená syntetická sladidla Evropskou komisí jsou polyglycitolový sirup a advantam v roce 2012 a 2014, jakožto náhradní sladidla v produktech se sníženým obsahem energie nebo produktech bez přidaného cukru [9], [10].

Syntetická sladidla, která jsou povolená dle legislativy (Nařízení Komise (EU) č. 1333/2008) jsou shrnuta v Tab. 5 [5].

Tab. 5 Syntetická sladidla [5], [8], [11], [12]

Název	E kód	Vlastnosti
Acesulfam K	E 950	Díky vysoké rozpustnosti se velmi snadno čistí pomocí rekrystalizace. Ve vyšší koncentraci může být nahořklý. Je cca 200x sladší než 3% roztok sacharózy.
Aspartam	E 951	Není rozpustný v tucích a olejích. Má čistou a sladkou chuť bez nahořklé nebo kovové pachuti. Sladivostí je podobný sacharóze.

Tab. 5 Syntetická sladidla – pokračování [5], [8], [11], [12]

Název	E kód	Vlastnosti
Kyselina cyklámová a její sodná a vápenatá sůl	E 952	Velmi dobře rozpustné ve vodě s citronově kyselou sladkostí. Stabilní vůči teplu, světlu, vzduchu a širokému rozsahu pH. Mají 30x vyšší sladivost než sacharóza.
Sacharin a jeho sodná, draselná a vápenatá sůl	E 954	Relativně levné. Nejužívanější forma je sodná díky výborným fyzikálním vlastnostem. Všechny formy jsou 200-800x sladší než sacharóza.
Sukralóza	E 955	Jedná se o derivát sacharózy. Obecně je považována za 600x sladší než sacharóza.
Neohesperidin DC	E 959	Jedná se o glykosidický flavonoid, který se vyrábí hydrogenací v alkalických podmínkách. Je zhruba 1 800x sladší než sacharóza.
Neotam	E 961	Stejně jako advantam je derivátem aspartamu. Nemá žádné pachutě. Je 7 000-13 000x sladší než sacharóza.
Sůl aspartamu-acesulfamu	E962	Vyrábí se v kyselém roztoku pomocí zasolování. Sladivostí je identická ekvimolární směsí aspartamu s acesulfamem K.
Polyglycitolový sirup	E 964	Je složen převážně z maltitolu a sorbitolu. Vyrábí se hydrogenací škrobového hydrolyzátu. Jedná se o bezbarvou čirou viskózní tekutinu bez zápachu.
Advantam	E 969	Jedná se o derivát aspartamu vyráběný chemickou reakcí mezi aspartamem a vanilinem. Udává se 14 000-48 000x vyšší sladivost než sacharóza.

### Další náhradní sladidla

Z přídatných látek byly nově povoleny, v roce 2021, Evropskou komisí (Nařízení Komise (EU) č. 2021/1156) steviol-glykosidy extrahované z listů rostliny *Stevia rebaudiana* a enzymaticky produkované jako náhradní sladidla. Dle nařízení dále platí, že steviol-glykosidy musí obsahovat více než 95 % následujících steviol-glykosidů (vztaheno na sušinu): steviosid, rubusosid, dulkosid A, steviolbiosid a rebaudiosid A, B, C, D, E, F a M [13].

Tab. 6 Další náhradní sladidla [13], [14]

Název	E kód	Vlastnosti
Thaumatococin	E 957	Jedná se o proteinové sladidlo extrahované z ovoce <i>Thaumatococcus danielli</i> . Sladivost je zhruba 1 600-3 000x vyšší než sacharóza.
Steviol-glykosidy ze stévie	E 960a	Získávají se vodnou extrakcí z listů rostliny. Jsou jemně nahořklé a trpké. Jsou 250-350x sladší než sacharóza.
Enzymaticky produkované steviol-glykosidy	E 960c	Produkce pomocí geneticky modifikovaných kvasinek <i>K. phaffi</i> UGT-a a <i>K. phaffi</i> UGT-b.

#### 2.1.1.2 Želírující látky

Želírující neboli rosolotvorné látky jsou důležité pro výrobu želé. Jedná se o suroviny organického původu hydrofilní povahy [4]. Jsou schopny poutat vodu a za určitých podmínek

tvoří gel [4]. Předchází tomu hydratace a nabobtnání a následné rozpouštění za vzniku viskózní kapaliny zvané sol [4]. Při ochlazení vzniká gel [4]. Nejčastěji se využívají polysacharidy jako je škrob nebo pektin, ale hlavně želatina, která je hydrolyzovaným kolagenem [2].

#### **Agar (E 406)**

Jedná se o polysacharid, který se izoluje z mořských řas, a to jejich promýváním vodou a rozvařováním za zisku solu, který se dále upravuje [2], [4]. Ve studené vodě je agar nerozpustný a gelovatí při 30-40 °C [2], [4]. Při vyšších teplotách za přítomnosti kyselin dochází k jeho hydrolyze, čímž dojde k narušení rosolotvorných schopností [2], [4]. Komerčně je poté dostupný ve formě plátků nebo prášku [4].

#### **Algináty (E 404)**

Stejně jako agar se získávají z mořských řas, avšak jiného druhu [2,4]. Využívají se ve formě vápenatých solí kyseliny alginové [2], [4]. Pevnost gelu je závislá na množství vápníku, pH a typu kyseliny alginové [2], [4]. Mohou se používat např. jako stabilizátory tukových emulzí [4].

#### **Karragenany (E 407)**

Další želírující látkou, která se získává z řas, je karragenan. Vyskytují se ve třech formách dle stupně esterifikace na  $\iota$ ,  $\kappa$  a  $\lambda$ . Rosolotvorné vlastnosti mají pouze formy  $\iota$  a  $\kappa$  [2].

#### **Pektin (E 440)**

Pektin je polysacharid vyskytující se v buněčných stěnách rostlin, především pak v ovoci a nejvíce je zastoupen v citrusových plodech a jablkách, odkud se získává kyselou extrakcí [2], [4]. Želírující schopnost udává stupeň esterifikace karboxylových skupin, podle čehož je poté můžeme rozdělit na vysokoesterifikované (HM) a nízkoesterifikované pektiny (LM) [2], [4]. Tvorba gelu je poté závislá na přítomnosti cukru (u HM pektinu) nebo vápníku (u LM pektinu), důležitým faktorem je pH [2].

#### **Želatina (E 441)**

Želatina je živočišná bílkovina, přesněji se jedná o částečně hydrolyzovaný kolagen [2], [4]. Extrahuje se z vepřové nebo hovězí kůže, popřípadě z kostí [2], [4]. Pro použití je třeba ji nejprve nabobtnat ve vodě, k jejímu rozpouštění dochází při teplotách kolem 70 °C a následným ochlazením se vytváří gel [4]. Stejně jako agar je dostupná ve formě plátků nebo prášku [4].

### **2.1.1.3 Leštící látky**

Mezi leštící látky patří vosky a laky, které zlepšují vzhled cukrovinky, ale zároveň slouží jako ochranná vrstva [2], [5]. Zařazují se mezi aditivní látky a jsou spravovány nařízením EU č. 1333/2008 [5].

Pro cukrovinky je povoleno použití včelího vosku (E901) žlutého nebo bílého. Získává se z včelích pláství. Dále kandelilový vosk (E 902), který se získává zpracováním rostlin rodu *Euphobiaceae* nebo karnaubský vosk (E 903) získávaný z listů tropické palmy *Copernicia cerifera* [2], [15].

Ochrannou vrstvu pro dražé tvoří různé laky, přičemž se využívají ethanolické roztoky. Jedním s nejvíce užívaných je šelak (E 904), jedná se o pryskyřici, která je vyměšovaná brouky rodu *Lachardia* [2], [15].



#### 2.1.1.4 Barviva

Barviva se používají za účelem obarvení bezbarvého výrobku, zvýraznění původní barvy, která byla narušena během zpracování nebo zvýšení atraktivnosti [5]. Zařazují se také mezi aditivní látky, a proto je jejich použití v potravinách upravováno nařízením EU č. 1333/2008 [5]. Barviva jsou poté dostupná ve formě prášků, gelů, roztoků nebo také laku [2]. Rozdělujeme je na dvě hlavní skupiny: přírodní a syntetická [2], [16].

Přírodní barviva jsou součástí rostlin, živočichů či nerostů [16]. Řadí se sem i produkty z přírodních surovin, které jsou pozměněny technologickými postupy, jako je např. karamel [16]. Podle struktury se dělí na dusíkaté heterocyklické sloučeniny (př. chlorofylová barviva E 140), kyslíkaté heterocyklické sloučeniny (př. anthokyany E 163), fenoly (př. kurkumin E 100) a terpenoidy (př. karoten E 160a) [16]. Většina barviv používaných pro cukrovinky se získává z ovoce nebo zeleniny, jako je červená řepa nebo maliny, čímž mohou i vnášet charakteristickou chuť či vůni těchto surovin [2], [16].

Na rozdíl od přírodních barviv se syntetická barviva vyznačují intenzivnější barvou, bez vůně a chuti [16]. Díky své stabilitě a nižší ceně mají široké uplatnění v průmyslu [16]. Jejich seznam a použití je ale velmi pečlivě sledováno a upravováno legislativou (viz Tab. 7) [2]. Potravinářství s přítomností následujících barviv musí mít na obalu vyznačenou informaci o možném nepříznivém vlivu na činnost a pozornost dětí: žluť SY, chinolinová žluť, azorubin, červeně AC, tartrazin a ponceau 4R [5].

Tab. 7 Seznam syntetických barviv povolených v EU [5], [16]

Název	E kód	Barva
Tartrazin	E 102	Citronově žlutá
Chinolinová žluť	E 104	Žlutá
Žluť SY	E 110	Oranžová
Azorubin	E 122	Modročervená
Amarant	E 123	Modročervená
Ponceau 4R	E 124	Červená
Erythrosin	E 127	Červená
Červeně AC	E 129	Červená
Patentní modř V	E 131	Zelenomodrá
Indigotin	E 132	Tmavě modrá
Brilantní modř	E 133	Zelenomodrá
Zeleň S	E 142	Zelená
Brilantní černě PN	E 151	Černá
Hněď HT	E 155	Hnědá
Litholrubin BK	E 180	Červená

#### 2.1.1.5 Aromata

Aromata jsou látky přírodního nebo syntetického původu. Přípravky, které se využívají v potravinářském průmyslu, bývají směsi, a proto není tato kategorie upravována legislativou aditivních látek [2]. Jedná se o látky dodávající výrobkům vůni a chuť, které vytvářejí komplexní vjem důležitý pro spotřebitele, označující se jako flavour [2], [16]. Aroma jako takové je však ovlivněno nejen koncentrací aromat, ale i dalších složek potravy, především

bílkovin, sacharidů a lipidů, které mohou vůni zintenzivnit nebo utlumit [16]. Samotné účinné látky mají velmi intenzivní účinky, a proto bývají výrobci řaděny [2]. Seznam látek, které jsou povoleny pro aromatizaci potravin, je uveden v nařízení Komise EU č. 872/2012 [17].

### **Chuťové látky**

Chuťové látky bývají ve vodě rozpustné polární a netěkavé sloučeniny, působící na chuťové receptory v ústní dutině. Člověk je schopen vnímat sladkou, slanou, kyselou, hořkou chuť a umami, ale i trpkou nebo pálivou chuť a další [16].

### **Vonné látky**

Jedná se o látky působící na čichové receptory, ale mohou současně působit i na chuťové. Jsou to převážně málo polární a nepolární těkavé látky a výsledný vjem je způsoben širokou škálou sloučenin. Potravinu většinou charakterizuje několik set různých látek. Existuje velmi málo potravin, které mohou být spojovány s vůní jedné nebo menšího množství látek, tzv. klíčových složek. Některé z vonných látek mohou vykazovat pozitivní účinky na lidský organismus, jako jsou protizánětlivé účinky (př. mentol). Vonné látky můžeme dělit podle způsobu vzniku v přírodních zdrojích na primární a sekundární [16].

Primární vonné látky jsou především terpeny a jedná se o sloučeniny vycházející ze sekundárního metabolismu rostlin, živočichů nebo jiných producentů. Jejich produkce je dána genetikou [16].

Sekundární vonné látky jsou přítomny v senzorycky inaktivní formě a k jejich aktivaci může dojít různými procesy. Vznikají během skladování a zpracování potravin, účinkem enzymů nebo jako produkty metabolismu mikroorganismů ve fermentačních pochodech [16].

### **Vonné a chuťové látky v cukrovinkách**

Studie zabývající se uvolňováním aroma v gumových cukrovinkách publikovali Pizzoni a kol. [18], kde přidávali jahodové aroma. V cukrovinkách stanovili např. ethylacetát nebo limonen. Ve svém výzkumu zaměřeném na efekt stévie, xylitolu a kukuřičného sirupu na vlastnosti žvýkacích tamarindových cukrovinek Samakradhamrongthai a Jannu [19] zjišťovali i složení aromaticky aktivních látek, kde klíčovými složkami byly limonen, furaneol, furanoid, linalool, nonanal, cinnamylacetát a geranylacetát. V další studii byl sledován efekt pulpy a pektinu na senzorycké vlastnosti a těkavé složky v rámci optimalizace ovocného želé z ovoce cajá-umbu (rodu *Spondias*) Ribeiro dos Santos a kol. [20]. V tomto želé byly identifikovány např. kamfen, limonen nebo p-cymen.

#### **2.1.1.6 Látky upravující kyselost**

Kyselá chuť je typická pro různé druhy cukrovinek. K docílení kyselé chuti se využívá kyseliny citrónové (E 330), mléčné (E 270), jablečné (E 296), vinné (E 334), askorbové (E 300) a jejich soli, dále i octan draselný (E 261), sodný (E 262) nebo vápenatý (E 263). Kyseliny se však dodávají nejen za účelem chuti, ale i ke snadnější tvorbě gelů vlivem sníženého pH [2], [5].

#### **2.1.2 Technologie výroby želé cukrovinek**

Cukrovinky se rozdělují na dvě skupiny podle technologie výroby na cukrovinky s nevykrytalizovanou (želé, šlehané cukrovinky, kandyty, karamely, gumovité cukrovinky) a vykrytalizovanou sacharózou (fondán, komprimáty, marcipán) [2]. Vzhledem k tomu, že práce se zabývá výrobou želé cukrovinek, je hlavní pozornost věnována této skupině.

### **2.1.2.1 Cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharózou**

Pro výrobu cukrovinek tohoto typu se využívá glukózového sirupu nebo invertního cukru, které zabraňují krystalizaci sacharózy snížením její rozpustnosti [2]. Obecně se jedná o cukrovinky s nízkým obsahem vlhkosti [21].

#### **Želé**

Želé jsou cukrovinky s přídavkem želírujících látek, které jim dodávají konzistenci tuhého gelu. Pokud se pro výrobu používá ovocná dřevina nebo šťáva, nazýváme ho ovocným želé, v případě použití želírujících látek a ochucujících složek se jedná o želé s ovocnou příchutí. Podle typu želírující látky rozdělujeme želé škrobové, želatinové a pektinové, z důvodu jiných vlastností a tvorby výrobku o jiné konzistenci [2], [21].

#### *Škrobové želé*

Základem je tvorba suspenze sacharózy, glukózového sirupu a škrobu ve vodě. Zahřátím dojde k absorpci vody a následnému bobtnání škrobového zrna. Konec nastává v momentě rozpadnutí zrna za vzniku roztoku. Ochlazením se tvoří gel, který se nalévá do škrobových forem. Povrch se často upravuje kandýrováním, což je proces obalení cukrovinky sacharózou. Výsledkem je výrobek s 1-2 % nižším obsahem vody než ve výchozí suspenzi [2].

#### *Želatinové želé*

Pro výrobu se připravuje cukrosirupový roztok ze sacharózy a glukózového sirupu v poměru 2:1 nebo 1:1. Takto vzniklý roztok se postupně přivede k bodu varu 113-121 °C. Po ochlazení na zhruba 100 °C se přidává roztok želatiny, který se připravuje rozpuštěním ve vodě při 54-60 °C. Je nutné přilévat želatinu postupně, aby nedošlo k narušení její želírující schopnosti vlivem vysoké teploty. Hotový gel se nalévá do škrobových forem. Stejně jako škrobové želé může být povrch upraven kandýrováním anebo nastříkáním tenké vrstvy oleje či vosku [2], [21].

Schopnost želatiny tvořit gel je závislá i na pH, kde je optimální hodnota 3,8-4,0, čehož dosáhneme přídavkem okyselujících látek [2].

#### *Pektinové želé*

Při výrobě se využívá jak vysokoesterový, tak nízkoesterový pektin, případně i amidovaný, podle toho se zvolí vhodné i pH, které má vliv na zasíťování gelu. Pro výrobu se míchá práškový pektin se sacharózou a vodou, aby nedošlo ke hrdkovatění. Směs se zahřeje a po rozpuštění se přidává glukózový sirup a část kyseliny. Po částečném odpaření se přidává zbytek sacharózy. Hmota se nenechává chladit a ihned se nalévá do škrobových forem. Povrch se upravuje kandýrováním nebo máčením v čokoládě [2].

#### *Agarové želé*

Na výrobu agarového želé se používá práškový nebo vláknitý agar, který je nutno rozpustit v čisté vodě za zvýšené teploty. Po získání roztoku se přidává sacharóza a roztok zahřejeme na vyšší teplotu, až poté se přidává škrobový sirup. Hotové výrobky se kandýrují [21].

### **2.1.2.2 Cukrovinky s vykrystalizovanou sacharózou**

Cukrovinky s vykrystalizovanou sacharózou se liší od předchozí skupiny svojí jemnou strukturou. V technologii výroby se odlišují především jiným varným poměrem, který je ve prospěch sacharózy. Typickým zástupcem je fondán, který se vyznačuje mléčnou barvou. Vykrystalizování probíhá za intenzivního míchání během ochlazování [2].

Dalším zástupcem jsou komprimáty, vyráběné stlačením obarvené a ochucené sacharózy s pojídlem. Patří sem i marcipán, který se tradičně vyrábí ze sladkých mandlí a sacharózy [2].

## 2.2 Charakteristika použitých rostlinných materiálů

Pro práci byly využity extrakty ze zázvoru lékařského a meduňky lékařské jako přídavek do želé cukrovinek.

Extrakt meduňky lékařské využili např. Sik a kol. [22] v čokoládě jako nosič extraktu bohatého na kyselinu rozmarýnovou pro použití v medicíně jako prevenci chronických nemocí. Dále se také přídavkem extraktu z meduňky, cesmíny a citronové trávy do zmrzliny zabývali Gremski a kol. [23], kde sledovali antioxidační aktivitu.

Aplikaci zázvorového extraktu použili Kumar a kol. [24] při přípravě cukrovinek bohatých na antioxidanty s přídavkem extraktů z řepných matolin za účelem zvýšení kvality zázvorových cukrovinek a využití odpadového produktu ze zpracování řepy. Ve studii Anita a kol. [25] zjistili, že podání zázvorových cukrovinek v těhotenství u žen v prvním trimestru snižuje frekvenci zvracení.

### 2.2.1 Meduňka lékařská (*Melissa officinalis*)

Meduňka lékařská, latinsky *Melissa officinalis*, je rostlina původem z Asie a Evropy, patřící do čeledi hluchavkovitých [22], [23], [26]. Jedná se o aromatickou bylinu tradičně užívanou pro léčbu nespavosti, poruch trávicího systému či stresu [22], [26]. Tyto účinky vykazuje díky fenolickým sloučeninám, především kyselině rozmarýnové, která je potenciálním lékem proti Alzheimerově chorobě. [22], [26]. Zároveň má meduňka i silné protizánětlivé, antioxidační a antivirotické účinky [22].

Nejčastěji je užívána ve formě čajů nebo fytomedicíny, je ale také zdrojem vonných látek a přidává se do kosmetiky [22], [26].

#### 2.2.1.1 Aromatické látky meduňky

Aromatický profil meduňky byl zkoumán např. v práci Spadaccino a kol. [27] zaměřující se na charakterizaci esenciálních olejů z trnky obecné, šalvěje lékařské, blahovičnicku kulatoplodého, meduňky lékařské a máty peprné. Pro analýzu jednotlivých esenciálních olejů využili metodu HS-SPME-GC-MS. Identifikovali přes 150 těkavých látek, mezi kterými byly zastoupeny karboxylové kyseliny, alkoholy, aldehydy, terpeny a další. Konkrétně se jednalo o např. furfural, eukalyptol, limonen, přičemž v meduňkovém oleji dominoval především linalool a geranial.

Ve studii zaměřující se na minerály, esenciální oleje a biologické vlastnosti meduňky lékařské identifikovali Abdellatif a kol. [28] celkem 78 těkavých látek pomocí metod GC a GC-MS. Největší zastoupení měly monoterpeny, z nichž neral, geranial a citronellal jako hlavní komponenty. Menší zastoupení pak tvořily seskviterpeny, tvořené  $\beta$ -kurkumenem,  $\alpha$ -kopaenem a  $\beta$ -karyofylenem.

Ghasemi Pirbalouti a kol. [29] identifikovali pomocí metod GC-FID a GC-MS 35 sloučenin. Stejně jako v předchozích pracích byly identifikovány jako hlavní látky geranial, neral, citronellal,  $\beta$ -karyofylen a dále také thymol, karvakrol a geranylacetát.

### 2.2.1.2 Bioaktivní látky meduňky

Bioaktivní látky jsou sloučeniny, které dávají bylinám jejich léčivé vlastnosti. V případě meduňky se jedná především o fenoly a flavonoidy. Nejvíce zastoupenými fenoly jsou deriváty kyseliny kávové, jako je kyselina rozmarýnová [23], [30].

Množství fenolů v rostlině lze ovlivnit způsobem pěstování, jedná se např. o listovou aplikaci mikroživin, jako jsou zinek, železo, mangan a měď, která zvýšila hladinu fenolů a esenciálních olejů v rostlině. Vliv má také světlo a odrůda meduňky, pro zachování co nejvyššího množství bioaktivních látek je způsob zacházení se samotnou bylinou a část, ze které extrahujeme. Množství fenolů není v rostlině všude stejné, vyšší množství obsahují především listy [30], [31].

Celkový obsah fenolů se dle literatury pohybuje v rozmezí hodnot 0,13-269 mg<sub>GAE</sub> · g<sup>-1</sup> suché váhy [30].

### 2.2.2 Zázvor lékařský (*Zingiber officinale*)

Zázvor lékařský (*Zingiber officinale*) je kořen z čeledi zázvorovitých. Bylina je původní pro Asii, ale je pěstována i v dalších tropických oblastech světa. Je užíván jako jídlo, koření, doplněk stravy, ochucovadlo a také v tradiční medicíně díky přítomnosti fenolů, terpenoidů a dalších látek. Běžně se užívá při nachlazení, bolestech v krku, problémech s trávicím traktem, při cukrovce nebo kardiovaskulárních chorobách a dalších [24], [32]. Navíc vykazuje ochranné účinky vůči přírodním, chemickým, ale i radiačním toxickým účinkům [33].

Samotný kořen je tvořen těkavými látkami (esenciální oleje) a netěkavými sloučeninami zahrnující oleopryskyřice, které jsou hlavním zdrojem štiplavé chuti, dále také běžné organické a anorganické sloučeniny [33]. Kvůli své výrazné ostré chuti má omezené použití ve zpracovaných potravinách a uplatnění nachází v některých nápojích jako je tonik, cukrovinky nebo sirupy [24]. Zázvor je dostupný ve formě prášku, pasty, esenciálního oleje, ale i jako čerstvý kořen [32].

#### 2.2.2.1 Aromatické látky zázvoru

Typický aromatický profil zázvoru je tvořen látkami zingiberen, β-seskvifelandren, β-bisabolen, citral a citronellylacetát, mezi další těkavé látky patří kurkumin, farnesen, linalool a borneol [16], [32].

Zkoumáním těkavých látek se zabývali Ahmed a kol. [34], kde identifikovali 82 sloučenin v různých odrůdách zázvoru pomocí metody GC-MS. Hlavními sloučeninami zázvoru původem z Egyptu a Brazílie byly kamfen, zingiberen, 1,8-cineol, β-felandren, α-pinen a α-kurkumen. Zázvor z těchto dvou oblastí obsahoval o 10-29 % více těchto látek než zázvor z Číny a Saudské Arábie.

Aromatický profil odrůd z Číny a Saudské Arábie byl porovnáván Al-Dhalim a kol. [35] za použití GC-MS. Bylo identifikováno 43 a 30 těkavých látek. Nalezené látky byly ze skupin monoterpenoidů, seskviteterpenů a seskviterpenových alkoholů. Hlavní látku u čínského zázvoru tvořil α-zingiberen a u zázvoru ze Saudské Arábie kurkumin.

### 2.2.2.2 Bioaktivní látky zázvoru

Bioaktivními složkami zázvoru jsou především gingeroly, shoagoly, paradoly a zingerony, které patří mezi fenolické látky. Bioaktivními sloučeninami jsou ale i monoterpeny (citral), seskviterpeny (farnesen) a diarylheptanoidy (kurkumin) [33].

Hlavní složkou zodpovědnou za pálivou chuť zázvoru je 6-gingerol, který je termolabilní a během tepelné úpravy přechází na shoagol, který dodává páливо-sladkou chuť. I po přeměně zůstávají biologické vlastnosti shoagolu stejné jako u gingerolu. Obě látky mají antimikrobiální, protizánětlivé, antioxidační, protirakovinné a antialergenní účinky. Shoagol je navíc efektivní proti kašli a gingerol vykazuje analgetické vlastnosti [32].

Zázvor také obsahuje i velké množství flavonoidů, které však nejsou pro zázvor charakteristické [33].

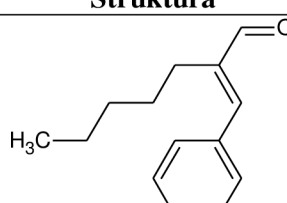
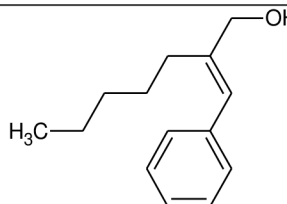
Množstvím bioaktivních látek v zázvoru v závislosti na metodě sušení se zabývali Ghafoor a kol. [36] v závislosti na metodě sušení. Použili sušení v troubě, mikrovlnné troubě, lyofilizaci a sušení vzduchem v místnosti. Lyofilizovaný zázvor obsahoval nejvyšší množství fenolických látek  $931,94 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Pro jednotlivé fenolické sloučeniny byla nejlepší metoda sušení v troubě, kde dominantními byly katechin  $250,02 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , kyselina gallová  $197,03 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a 3,4-dihydroxybenzoová kyselina  $116,07 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

## 2.3 Alergenní vonné látky

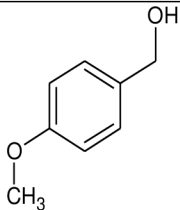
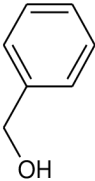
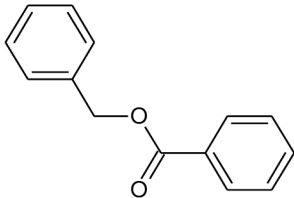
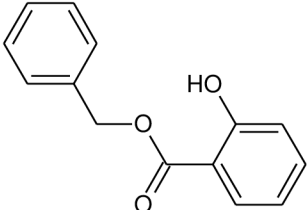
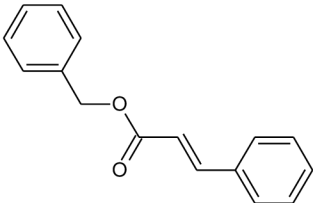
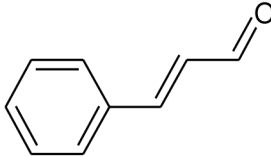
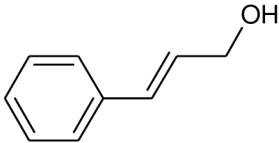
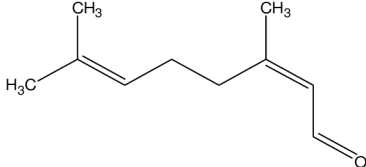
Alergenní vonné látky dosud nejsou v potravinách upravovány legislativou. Existuje aktuálně seznam 25 alergenních látek (viz Tab. 8), které jsou limitovány v kosmetických přípravcích podle Nařízení EU č. 1223/2009 [37]. Dle této směrnice je výrobce povinen uvést přítomnost jednotlivých sloučenin na obalu, pokud je překročena koncentrace 0,01 % pro výrobky, které se oplachují a 0,001 % pro kosmetické přípravky bez opláchnutí [37]. Jedinou alergenní vonnou látkou zakázanou v potravinářském průmyslu je kumarin, který nesmí být přidáván do potravin jako takový [38].

Nově bylo zakázáno použití lilialu v kosmetických přípravcích, který byl původně v alergenní skupině, změna je upravena v nařízení komise EU č. 2021/1902. Podle nařízení se jedná o látku karcinogenní, mutagenní nebo toxickou pro reprodukci [39].

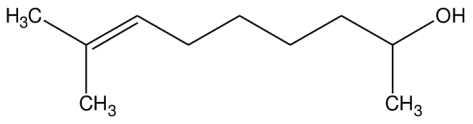
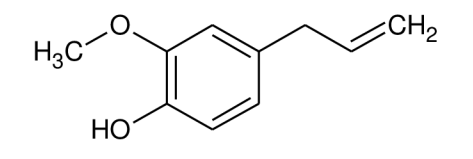
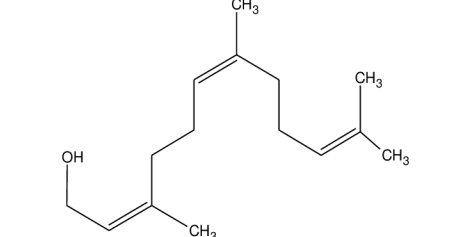
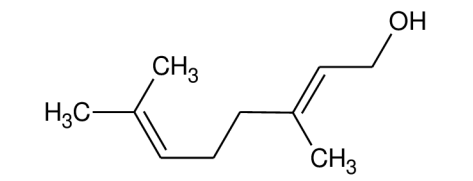
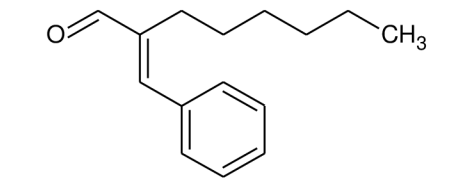
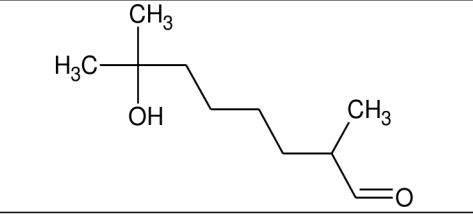
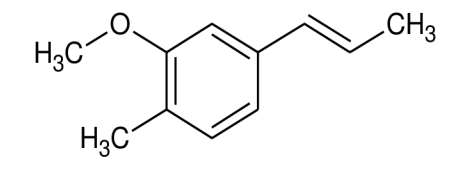
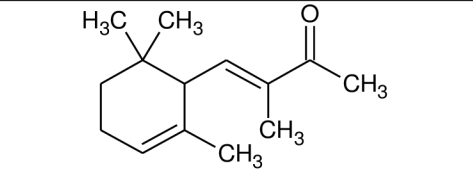
Tab. 8 Alergenní vonné látky [37], [39-44]

Název a CAS číslo	Struktura	Vlastnosti a použití
Amylcinnamal [122-40-7]		Tekutá látka s vůní jasmínu. Použití v kosmetice a potravinách.
Amylcinnamylalkohol [101-85-9]		Tekutá látka s jemnou květinovou vůní. Použití v kosmetice a potravinářství.

Tab. 8 Alergenní vonné látky – pokračování [37], [39-44]

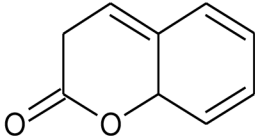
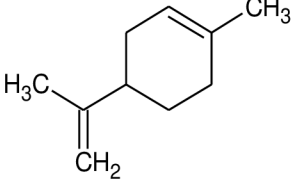
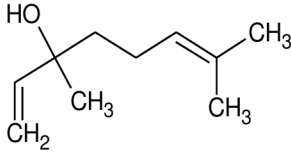
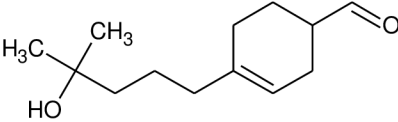
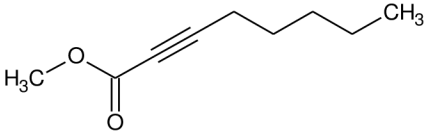
Název a CAS číslo	Struktura	Vlastnosti a použití
Anýzalkohol [105-13-5]		Tekutá nebo krystalická látka se sladkou květinovou vůní. Použití v kosmetice, potravinářství a čisticích prostředcích.
Benzylalkohol [100-51-6]		Tekutá látka s vůní třešňi, růži, mechu a pečeného chleba. Použití v kosmetice, potravinářství, léčivech.
Benzylbenzoát [120-51-4]		Čirá bezbarvá kapalina s vůní připomínající mandle. Použití v kosmetice, potravinářství, léčivech.
Benzylsalicylát [118-58-1]		Bezbarvá kapalina s nasládlou vůní květin. Použití v kosmetice, potravinářství a čisticích prostředcích.
Benzylcinnamát [103-41-3]		Bílé až žluté krystalky se sladkou vůní. Použití v kosmetice a potravinářství.
Cinnamal [104-55-2]		Žlutá olejovitá kapalina s vůní skořice. Použití v medicíně, kosmetice a potravinářství.
Cinnamylalkohol [104-54-1]		Tekutá nebo žlutá krystalická látka se sladkou květinovou vůní. Použití v medicíně a potravinářství.
Citral [104-54-1]		Žlutá olejovitá kapalina s výraznou citronovou vůní. Použití v kosmetice, potravinářství a zemědělství.

Tab. 8 Alergenní vonné látky – pokračování [37], [39-44]

Název a CAS číslo	Struktura	Vlastnosti a použití
Citronellol [106-22-9]		Přirozeně se vyskytující látka součástí některých bylin. Použití v kosmetice, a potravinářství.
Eugenol [97-53-0]		Bezbarvá kapalina vyskytující se v hřebíčku, s ostrou vůní. Používá se v kosmetice, stomatologii a potravinářství.
Farnesol [4602-84-0]		Bezbarvá kapalina se sladkou květinovou vůní. Použití v medicíně, potravinářství, kosmetice a zemědělství.
Geraniol [106-24-1]		Bezbarvá až světle žlutá olejovitá kapalina se sladkou vůní růží. Použití v medicíně, potravinářství, zemědělství a kosmetice.
Hexylcinnamal [101-86-0]		Žlutá tekutina s jasmínovou vůní. Použití v kosmetice a potravinářství.
Hydroxycitronellal [107-75-5]		Silně aromatická syntetická látka vonící po liliích. Použití v medicíně, potravinářství a kosmetice.
Isoeugenol [97-54-1]		Bezbarvá až nažloutlá olejovitá kapalina s ostrou hřebíčkovou vůní. Použití v medicíně, potravinářství a kosmetice.
$\alpha$ -Isomethyl jonon [127-51-5]		Bezbarvá až nažloutlá kapalina s vůní dřeva, květin a sušeného ovoce. Použití v kosmetice.



Tab. 8 Alergenní vonné látky – pokračování [37], [39-44]

Název a CAS číslo	Struktura	Vlastnosti a použití
Kumarin [91-64-5]		Bezbarvé krystalky s vůní vanilky. Použití v kosmetice.
Limonen [5989-27-5]		Bezbarvá kapalina se svěží citrusovou vůní. Použití v kosmetice a potravinářství.
Linalool [78-70-6]		Bezbarvá kapalina květinové vůně. Použití v potravinářství, kosmetice, barvách.
Lylal [31906-04-4]		Bezbarvá až světle žlutá kapalina s vůní lilie. Použití v kosmetice.
Methyl-2-oktynoát [111-12-6]		Bezbarvá až žlutá látka se silnou až nepříjemnou vůní. Použití v potravinářství a kosmetice.
Výtažek z větvičniku slívového [90028-68-5]	–	Přírodní extrakt popisovaný jako sladký, s vůní zeleně. Používá se v kosmetice.
Výtažek z terčovky otrubičnaté [90028-67-4]	–	Přírodní extrakt s vůní připomínající dřevo, mech, les, mořské chaluhy.

## 2.4 Metody stanovení vonných a chuťových látek v cukrovinkách

Vzhledem k těkavému charakteru sensoricky aktivních látek se využívá nejčastěji plynové chromatografie v kombinaci s dalšími metodami ke stanovení většiny látek. Dále se ale mohou využít i analytické metody, které jsou zacíleny na jednotlivé látky, jako jsou např. sacharóza nebo kyselina citrónová.

### 2.4.1 Head-space metody

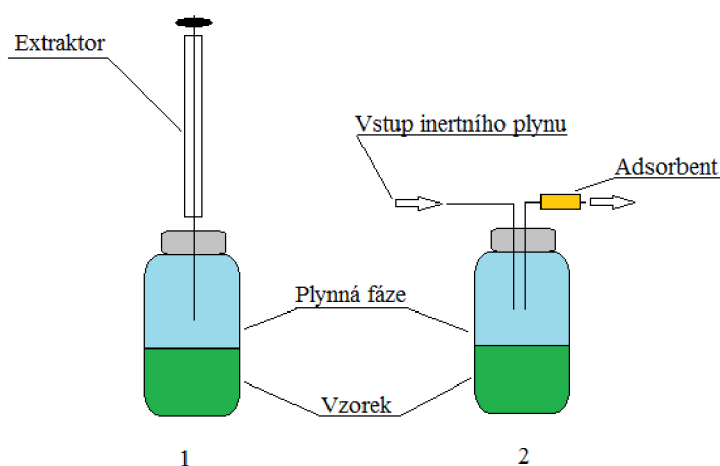
Head-space (HS) je extrakční metoda užívaná pro stanovení těkavých organických látek ve složitých vzorcích, jako jsou potraviny, kosmetika, polymery atd. [45]. Dochází tak ke zjednodušení následné analýzy vzorku odstraněním složité matrice [46]. Metoda zároveň přispívá k lepšímu porozumění tvorby aroma v čerstvých potravinách, ale i během jejich zpracování a skladování [46].

Využívají se dva přístupy extrakce (viz Obr. 1) – statický a dynamický HS [45]. Při využití statického HS je do skleněné vialky umístěn vzorek a zahřát na zvolenou teplotu, čímž dojde

k převodu těkavých látek do plynné fáze a oddělení od tuhé matrice [45], [47]. Když dojde k vytvoření rovnováhy mezi plynnou fází vůči tuhému vzorku v prostoru HS, tak jsou těkavé látky vlivem poklesu tlaku transportovány na kolonu v plynovém chromatografu [45].

Výhodou metody je v podstatě nulová předúprava vzorku. U analytů většího rozměru je třeba zvětšit povrch pro lepší uvolnění těkavých látek, a to rozmělněním na menší kusy nebo převedením na kapalinu rozpouštědly [45].

Dynamický HS je určen spíše pro určení stopového množství analytu. Nedochází zde k ustanovení rovnováhy a těkavé látky jsou kontinuálně odebírány proudem inertního plynu. Tímto dojde ke vzniku koncentračního gradientu mezi fázemi a vytvoření koncentrovaného extraktu těkavých látek na adsorbentu [45].



Obr. 1 Schéma uspořádání HS, 1: statický, 2: dynamický

## 2.4.2 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je preparativní metoda založená na přímé extrakci analytu za využití křemenného vlákna potaženého stacionární fází [45]. Vlákno bývá uloženo v ocelové kapiláře, která slouží jako ochrana a zároveň pro snadnou penetraci septa vialky [45], [47]. Metoda byla vyvinuta speciálně pro spojení s plynovou a kapalinovou chromatografií [45], [47]. Extrakce látek probíhá bez použití jakéhokoli rozpouštědla [45]. Mezi přednosti metody lze zařadit nízké detekční limity, široká možnost použití a snadná automatizace s využitím automatického dávkovače plynového chromatografu [45], [47].

K extrakci vzorku dochází po ustanovení sorpční rovnováhy nebo v určitém čase před jejím dosažením [45]. Princip spočívá v sorpci těkavých látek přímo ze vzorku nebo v prostoru nad jeho hladinou po určitou dobu [45], [47]. K desorpci analytu do proudu nosného plynu dochází v injektoru [47].

Přímá extrakce je vhodná spíše pro kapalné látky, kdy dochází k ponoru křemenného vlákna do vzorku [45]. Ve spojení s HS jsou látky extrahovány v prostoru nad vzorkem [45]. Existuje i membránová varianta, která slouží pro analýzu analytů ze znečištěných vzorků, kde je křemenné vlákno chráněno membránou [45].

### 2.4.3 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je separační analytická metoda, kde je analyt zadržován stacionární fází. Různé látky mají různou afinitu ke stacionární fázi a dle toho jsou zadržovány. Látky jsou unášeny nosným plynem [47].

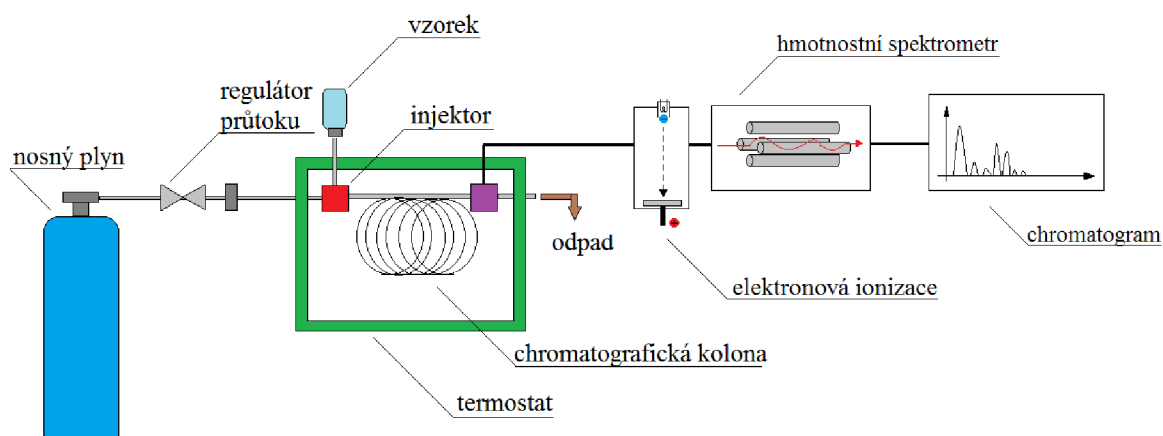
Je nutné, aby byl analyt převeden do plynné fáze před vstupem do separační kolony, aniž by se rozložil, a proto je metoda vhodná pro látky s bodem varu do zhruba 400 °C [47], [48]. Separované složky jsou poté unášeny z kolony na detektor [48]. Detektor převede množství oddělených složek na zesílený měřitelný signál [47].

#### 2.4.3.1 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS) (viz Obr. 2) je metoda vysoké efektivity a senzitivity s využitím velmi malého množství vzorku [48].

Těkavé látky jsou separovány pomocí plynového chromatografu a hmotnostní spektrometr analyzuje každou složku zvlášť. Analyt projde do iontového zdroje spektrometru, kde přechází do ionizovaného stavu ve formě pozitivně nabitých iontů [47], [48]. S výhodou se využívá elektronová ionizace, která tvoří knihovny spekter [47]. Ionty jsou poté vedeny do analyzátoru, kterým projdou pouze ionty o nastaveném poměru hmotnosti ku elektrickému náboji [47]. Aplikací elektrického a magnetického pole dojde k vychýlení jejich drah a ionty jsou buď vypuzeny do vakua, nebo letí přímo do detektoru, kde dochází ke konverzi na měřitelný elektrický signál [47], [48].

Výstupem metody je čárové hmotnostní spektrum, kde z výšky spektrální čáry lze usuzovat na koncentraci látky a z její polohy pak na kvalitu [47].



Obr. 2 Schéma zapojení GC-MS

### 2.4.4 Stanovení vonných a chuťových látek v cukrovinkách a bylinných extraktech

Uvolňování jahodového aroma v různých želé cukrovinkách zkoumali Pizzoni a kol. [18] pomocí GC-MS a elektronického nosu v kombinaci s HS. Zjistili, že želé připravené s pomocí různých želírujících látek (želatina, pektin, arabská guma) uvolňuje aroma jiným způsobem.

V práci Ribeiros dos Santos a kol. [20] se zabývali optimalizací ovocného želé z ovoce cajá-umbu a vlivu pektinu a pulpy na senzorní a těkavé vlastnosti. Extrakci těkavých látek provedli pomocí SPME a následnou analýzu GC-MS. V pulpě i želé převažovaly terpeny, jejichž koncentrace byla vyšší v pulpě než ve výrobku.

Spadaccino a kol. [27] charakterizovali esenciální oleje extrahované z různých bylin, mezi nimi i z meduňky lékařské. Pro zisk “finger printu“ těkavých látek získaných extraktů použili kombinaci metod HS-SPME-GC-MS. Výsledkem bylo potvrzení jednoduchosti a efektivnosti metody pro identifikaci a detekci těkavých látek v zemědělství a ekologii.

Meduňkou lékařskou se také zabývali Ghasemi Pirbalouti a kol. [29] z hlediska chemického složení a zisku esenciálního oleje. Meduňka byla sprejována kyselinou jasmonovou a salicylovou, což značně zvýšilo koncentraci monoterpenů a seskviterpenů v esenciálním oleji.

Metodu GC-MS také použili Ahmed a kol. [34] ve své práci zabývající se aplikací esenciálních olejů ze zázvoru, hřebíčku a tymiánu do měkkých sýrů za účelem zlepšení mikrobiální bezpečnosti a senzorických vlastností. Metodu použili na charakterizaci olejů, které obsahovaly velké množství kamfenu, thymolu a eugenolu.

## **2.5 Metody stanovení bioaktivních látek**

Součástí práce bylo stanovení antioxidační aktivity a celkových fenolů u připravených a komerčních nečokoládových cukrovinek s přídavkem bylinných extraktů. Rostliny mají vysoké množství látek s ochrannou funkcí vůči volným radikálům a nežádoucímu oxidačnímu stresu, jedná se o antioxidanty (karotenoidy, fenoly, flavonoidy, vitamíny, enzymy a další) [49].

Následkem oxidačního stresu často dochází ke vzniku běžných onemocnění, jako je diabetes, hypertenze, Alzheimerova nebo Parkinsonova choroba a další. Pro měření antioxidační aktivity existují různé metody, které lze rozdělit na spektrometrické, elektrochemické a chromatografické [49].

### **2.5.1 Metody založené na eliminaci radikálů**

Metody spočívají ve schopnosti vzorku eliminovat chromofory, které se mohou ve směsi generovat nebo jsou do ní přidávány [49].

#### **2.5.1.1 Metoda TEAC**

Metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) je jednoduchá metoda pro stanovení celkové antioxidační kapacity. K měření se využívá modro-zeleného kationradikálu ABTS<sup>•+</sup> [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)] s absorpčním maximem při 734 nm. V přítomnosti antioxidantů dojde k poklesu intenzity barvy čili i absorbance, která je úměrná množství přítomných antioxidantů ve vzorku. Metodu je možno zautomatizovat připojením na vysokoúčinný kapalinový chromatograf (HPLC), které analýzu zrychlí a zefektivní [49].

#### **2.5.1.2 Metoda využívající DPPH**

Metoda využívající DPPH (2,2-di(4-tert-oktylfenyl)-1-pikrylhydrazyl) je stejně jako TEAC jednoduchá metoda ke stanovení celkové antioxidační kapacity, k měření je potřeba spektrometr pracující v oblasti viditelného světla nebo elektronový paramagneticko rezonanční (EPR) spektrometr. Principem je dodání elektronu antioxidantem DPPH<sup>•</sup> radikálu za účelem jeho neutralizace. Reakce je doprovázena změnou barvy při 517 nm až do [49].

### **2.5.2 Metody založené na přenosu nepárového elektronu**

Metody jsou založeny na přenosu nepárového elektronu (SET). Principem je zjištění schopnosti přednosu elektronu antioxidantem za účelem snížení kovových iontů, karbonylové skupiny a volných radikálů. Zařazuje se sem např. CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) metoda založená na redukci měďnatých kationtů ( $\text{Cu}^{2+}$ ) na měďné ( $\text{Cu}^+$ ) [49].

### **2.5.3 Metody založené na přenosu vodíkového atomu**

Principem metody je odstranění volného radikálu přenosem vodíkového atomu (HAT) antioxidantem. Příkladem je ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity) metoda, která je založena na schopnosti štěpení radikálového řetězce antioxidantem skrze sledování inhibice oxidace peroxylovým radikálem [49].

### **2.5.4 Metody stanovení celkového obsahu fenolů**

Nejčastěji užívanou metodou pro stanovení celkového množství fenolů (TPC) ve vzorku je reakce s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Principem je redukce činidla fenolickými látkami v alkalickém prostředí. Jedná se o spektrofotometrické stanovení, kde dochází ke změně žlutého činidla na modrou barvu komplexu tvořeného s fenoly, maximum absorpce je při 765 nm [49].

Metoda se standardizuje na kyselinu gallovou a výsledek bývá vyjádřen jako její ekvivalent. Dalšími standardy mohou být katechiny, kyselina kávová nebo chlorogenová a další. Výhodou metody je jednoduchost, robustnost a reprodukovatelnost, na druhou stranu je stanovení citlivé na pH, teplotu a reakční čas [49].

### **2.5.5 Stanovení bioaktivních látek v cukrovinkách a bylinných extraktech**

Bioaktivní látky v tamarindových cukrovinkách stanovovali Sukeaw Samakradhamrongthai a kol. [19] v závislosti na použitém sladidle (stévie, xylitol, kukuřičný sirup). Stanovovali celkový obsah fenolů (Folin-Ciocalteuovo činidlo), flavonoidů a antioxidační aktivitu (DPPH, ABTS) u tamarindového prášku a hotových výrobků. Zjistili, že obsah bioaktivních látek značně klesl u hotového výrobku ve srovnání s práškem kvůli tepelnému zpracování, ale výrobky se stévií a xylitolem prokázaly vyšší obsah těchto látek.

Ghafoor a kol. [36] se zabývali ve své studii stanovením celkového obsahu fenolických látek a jednotlivých fenolických látek, karotenoidů a antioxidační aktivity v zázvoru v závislosti na sušících metodách (trouba, mikrovlnná trouba, sušení vzduchem a mrazem). Pro analýzu zvolili Folin-Ciocalteuovo činidlo na TPC, DPPH pro antioxidační aktivitu, HPLC pro jednotlivé fenolické látky a karotenoidy podle metody Rocha. Metody úpravy zázvoru, které zachovaly největší množství bioaktivních látek, byly trouba a sušení mrazem.

Bioaktivní látky v bylinách byly zkoumány v práci Razak a kol. [50]. Jednalo se o byliny užívané v tradiční medicíně v Kašmírském údolí – meduňka lékařská, smetánka lékařská a kopřiva dvoudomá. Pro stanovení použili dvě metody – DPPH a CUPRAC. Signifikantně vyšší obsah antioxidantů měla smetánka lékařská.

V práci využívající 19 nejčastěji užívaných bylinných čajů v Evropě a USA se snažili Herrera a kol. [51] stanovit obsah melatoninu a dalších nenutričních bioaktivních látek. Pro měření koncentrace těchto látek využili různé metody, mezi které patřily DPPH, ABTS, ORAC, deoxyribózová analýza a FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential). Značné množství

melatoninu bylo objeveno v heřmánkovém a zeleném čaji. Zároveň množství bioaktivních látek v čaji souviselo s inhibicí lipázy a  $\alpha$ -glukosidázy.

## 2.6 Senzorická analýza

Potravinářské výrobky lze jako každé jiné hodnotit pomocí chemických a fyzikálních metod, tím se však určí pouze určité vlastnosti zvané vnější podnět [52]. Pomocí senzorické analýzy dojde ke vnímání podnětu smyslovými receptory a jeho přeměně na vjem pomocí centrální nervové soustavy [52]. Jedná se o vědeckou metodu pro vyvolání, měření, analyzování a interpretaci potraviny pomocí smyslů – zrak, čich, chuť, hmat a sluch [53].

Pro zjištění senzorických vlastností potraviny se využívá skupiny proškolených osob, nazývaných senzorický panel, který hodnotí a převádí své vjemy do hodnot, které lze kvantifikovat [52], [53]. K tomuto se využívá řada metod a zkoušek různého charakteru [53].

### 2.6.1 Podmínky senzorické analýzy

Podmínky pro průběh senzorické analýzy jsou dány mezinárodními i českými ISO normami. Existují optimální podmínky, pro eliminaci rušivých vlivů, aby byl výsledek analýzy co nejpřesnější a nejobjektivnější [52]. Ideální hodnocení probíhá v senzorických laboratořích, které jsou přesně připravené pro tyto účely a opět splňují normy [53]. Základem je oddělení prostoru přípravy vzorků od hodnotící místnosti [52], [53]. Příklad optimálních podmínek je uveden v Tab. 8 [52].

Tab. 9 Optimální podmínky pro senzorickou analýzu [52]

Optimalizovaný faktor	Optimální podmínky pro analýzu
Hladina zvuku	kolem 40 dB, izolace dveří a oken
Teplota	21-23 °C, nejlépe klimatizace
Vlhkost vzduchu	40 až 70 %, v zimě vlhčení
Pohyb vzduchu	poznatelný pouze o přestávkách, jinak klid
Pachy	ochrana před pachy ventilací, pachovými filtry a nátěry neabsorbujícími pachy
Zrakové vjemy	světle šedá nebo bílá barva, bez výzdoby
Kontakt s lidmi	příhrady mezi hodnotiteli, kóje

Předkládání vzorků hodnotitelům se řídí přísnými pokyny. Základním pravidlem je dodržení hygienických předpisů pro zdravotní nezávadnost [52]. Další nezbytností je zachování anonymity vzorku (pomocí kódového značení) a randomizace, aby byla zachována objektivita hodnocení [52], [53]. Dále je třeba dodržet podávání dostatečného množství vzorku ve vyhovujícím nádobí, ve kterém se daná potravina běžně konzumuje [52], [53]. Také je potřeba zajistit určitou teplotu vzorku a chuťový neutralizátor (běžně voda) a přestávky mezi delšími hodnoceními [52], [53].

### 2.6.2 Metody pro senzorickou analýzu

Vhodná senzorická metoda je důležitá pro získání správných výsledků senzorické analýzy. Závisí na mnoha faktorech jako počet hodnotitelů a vzorků, množství času pro samotné hodnocení a také na vlastnostech vzorků [52].

Podle typu hodnocení se sensorické metody mohou rozdělit na diskriminační, deskriptivní a preferenční. Diskriminační zkoušky určují, zda existuje rozdíl mezi vzorky. V deskriptivní zkoušce jsou popisovány specifické vlastnosti vzorku. Preferenční zkoušky jsou velmi jednoduché a jsou založeny na oblibě vzorku [53].

#### **2.6.2.1 Diskriminační zkoušky**

Diskriminační zkoušky pomáhají stanovit rozdíl mezi dvěma vzorky. Je možné test provádět i s více vzorky, ale není to efektivní. Mezi nejčastěji používané patří párová porovnávací, trojúhelníková, duo-trio zkouška a zkouška „A-ne A“ [53].

Párová porovnávací zkouška je jednoduchá zkouška, při které hodnotitel vybírá lepší vzorek ze dvou. [53].

#### **2.6.2.2 Deskriptivní zkoušky**

Deskriptivní zkoušky mohou poskytnout celkový sensorický profil vzorku. Jedná se o hodnocení jednotlivých vlastností vzorku zvaných deskriptory (př. kyselost, tuhost, sladkost). Nejběžněji se hodnotí intenzita deskriptoru na stupnici. Pomocí metody se získají jak kvantitativní, tak kvalitativní vlastnosti vzorku (vzhled, konzistence, flavour, pachů). Pro hodnocení se využívá panel vyškolených hodnotitelů, kteří jsou schopni kvalitativní vlastnosti vzorku kvantifikovat pomocí deskriptorů [53].

#### **2.6.2.3 Metody s použitím stupnic**

Metody se využívají pro vyjádření rozdílů kvality mezi vzorky. Jednotlivá vlastnost se vyjadřuje pomocí stupnice. Základní typy stupnic jsou intenzitní, pomocí kterých se vyjadřuje intenzita vlastnosti, a hédonické, které slouží k určení příjemnosti počítku [53].

### **2.6.3 Sensorická analýza nečokoládových cukrovinek**

Dobhal a Awasthi [54] se zabývali přípravou řepových cukrovinek. Řepu předupravovali blanšírováním a vařením. U výsledného produktu sledovali barvu, flavour, konzistenci, chuť, vzhled, pachů a celkovou přijatelnost pomocí hédonických stupnic. Ze sensorického hlediska byl zvolen jako „nejlepší“ vzorek, kde byla řepa předupravena blanšírováním.

Řepovými cukrovinkami se zabývali také Ali a kol. [55] ve svém výzkumu o zkvalitnění cukrovinek za využití šťávy nebo pyré z řepy a močyně v marshmallow. V sensorickém hodnocení porovnávali vyrobené cukrovinky s komerčními pomocí jednoduché hédonické stupnice od 1 do 10, kde hodnotili první dojem, barvu, chuť, flavour, konzistenci, vzhled a celkovou přijatelnost. Ve výsledcích sensorické analýzy zjistili, že neexistuje žádný signifikantní rozdíl mezi vyrobenými a komerčními vzorky marshmallow.

Sensorickou analýzu provedli i Romo-Zamarrón a kol. [56] ve svém výzkumu zaměřující se na želé cukrovinky obohacené o prášek z ananasové a papájové kůry. Sensorický panel byl složen z neškolených hodnotitelů, kde se zaměřili v první části na preferovanou velikost částic v cukrovinkách. Druhou část tvořily preferenční zkoušky, kde se zaměřili na intenzitu barvy, tuhost, flavour, pružnost, sladkost a kyselost. Sensorický panel preferoval menší velikost částic kůry. Vyrobené vzorky byly zároveň méně kyselé, sladší, méně barevné a tužší než standardy.

## 2.7 Validace analytických metod

Jedním z dílčích cílů této práce bylo ověřit vybrané validační parametry metody stanovení alergenních vonných látek (kap. 2.3), proto jsou zde stručně popsány nejdůležitější validační parametry a způsob jejich stanovení.

Validace analytických metod slouží k získání konzistentního, reálného a správného výsledku. Používá se pro nové či modifikované metody, kde je nutné ověřit jejich použitelnost. Dle norem je nutné ověřit specifitu, linearitu, pravdivost, preciznost, limit detekce, rozsah, limit kvantifikace a robustnost. Výstupem je validační dokument, který obsahuje podmínky experimentu, výsledky a závěr [57].

### 2.7.1 Specifita měření

Specifita nebo také selektivita analytické metody je její schopnost měřit analyt přesně v přítomnosti interferencí. Běžně se jedná o různé nečistoty, matrice apod. Analyt by v tomto případě měl být dobře rozlišen od nečistot [57], [58].

### 2.7.2 Preciznost měření

Preciznost metody vyjadřuje těsnost shody mezi stejnými vzorky, které byly měřeny v sérii za sebou. Zkoumá se ve třech kritériích – opakovatelnost, středně pokročilá preciznost a reprodukovatelnost [57].

Opakovatelnost měření vyjadřuje preciznost měření při stejných podmínkách během krátkého časového intervalu. Středně pokročilá preciznost vyjadřuje preciznost v rámci laboratoře při opakovaném měření během různých dní provedené jinými analytiky, za použití jiného vybavení atd. Reprodukovatelnost udává preciznost měření stejné metody v jiných laboratořích [57].

### 2.7.3 Pravdivost měření

U pravdivosti měření se sleduje shoda mezi pravou hodnotou stanovované veličiny a hodnotou získanou validační metodou [57], [58]. Pravdivost je měřena „spikováním“ vzorku známou koncentrací analytického standardu pomocí metody, která je validována [58].

### 2.7.4 Limit detekce

Limit detekce (*LOD*) udává nejmenší množství látky, která může být danou validovanou metodou detekována, ale nemusí být přesně kvantifikována [57]. Poměr signálu k šumu by měl být 3:1 [58]. Limit detekce lze hodnotit několika možnostmi – vizuálně, na základě poměru signálu k šumu, směrodatné odchylky odezvy a sklonu kalibrační křivky [59]. Manuální výpočet pomocí poměru signálu k šumu u nejmenší možné koncentrace vzorku lze vypočítat za využití následujícího vzorce (1) [58]:

$$LOD = 3 \cdot \frac{\text{šum}}{\text{signál}} \cdot c \quad [\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}], \quad (1)$$

*LOD*...mez detekce; *c*...nejnižší koncentrace v kalibrační křivce vzorku.

Výpočet za pomoci směrodatné odchylky odezvy a sklonu kalibrační křivky analytu lze vypočítat pomocí vzorce (2) [59]:

$$LOD = \frac{3,3 \cdot \sigma}{S}, \quad (2)$$

*S*...sklon kalibrační křivky;  $\sigma$ ...chyba střední hodnoty.



### 2.7.5 Limit stanovitelnosti

Limit stanovitelnosti (*LOQ*) je definován jako nejnižší koncentrace vzorku, kterou je metoda schopna detekovat a kvantifikovat. Poměr signálu k šumu by měl být 10:1. Stejně jako *LOD* ho lze určit vizuálně, pomocí poměru signálu k šumu nebo směrodatné odchylky odezvy a sklonu kalibrační křivky [59]. Výpočet limitu *LOQ* pomocí poměru signálu k šumu dle vzorce (3) [58].:

$$LOQ = 10 \cdot \frac{\text{šum}}{\text{signál}} \cdot c \quad [\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}]. \quad (3)$$

Výpočet za použití směrodatné odchylky a sklonu kalibrační křivky lze pomocí vzorce (4) [59]:

$$LOQ = \frac{10 \cdot \sigma}{S}. \quad (4)$$

### 2.7.6 Linearita měření

Linearita analytického procesu je schopnost získat výsledky v daném rozsahu, které jsou přímo úměrné koncentraci analytu ve vzorku [57]. K linearitě se váže rozsah, který je definován jako interval mezi nejnižší a nejvyšší koncentrací analytu, ve kterém je měřeno s dostatečnou přesností a precizností [57], [58].

### 2.7.7 Robustnost měření

Robustnost se definuje jako schopnost metody zůstat neovlivněna malými, ale záměrnými změnami v parametrech metody a poskytuje normální výsledky během použití [57].

### 2.7.8 Nejistota měření

Nejistota měření je parametr, který souvisí s výsledkem měření, vyjadřuje rozptýlení hodnot, které mohou být přiřazeny měřené veličině. Nejistoty rozdělujeme na standardní, kombinovanou standardní, a rozšířenou [60].

Standardní nejistota výsledku měření je vyjádřena ve formě směrodatné odchylky. Tu lze hodnotit dvěma způsoby:

- typ A – Metoda hodnocení statickými analýzami v sérii pozorování za stejných podmínek. Odhad hodnoty je aritmetický průměr z  $n$  pozorování. Nejistota je poté výběrová směrodatná odchylka, která charakterizuje rozptyl kolem průměru [60].
- Typ B – Metoda hodnocení nejistoty vychází z předchozích naměřených dat, zkušeností nebo obecných znalostí chování a vlastností materiálů a strojů, specifikace výrobce, poskytnutých dat kalibrace a dalších certifikátů nebo nejistoty přiřazené k referenčním datům převzatých z příruček [60].

Kombinovaná standardní nejistota se používá v případě zisku výsledků z hodnot dalších veličin, které se rovnají druhé odmocnině součtu výrazů. Výrazy jsou rozptyly nebo kovariance veličin vážené podle změny výsledků měření se změnami těchto veličin [60].

Rozšířená nejistota definuje interval okolo výsledku měření, u kterého může být očekáváno, že zahrnuje velkou část rozdělení hodnot, které mohou být přiřazeny k měřené veličině [60].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část se zabývala výrobou želé cukrovinek s přidavkem extraktů zázvoru a meduňky a sušeného zázvoru a meduňky, senzorickou analýzou vyrobených cukrovinek a jejich charakteristikou z hlediska obsahu těkavých látek, celkového množství fenolů a antioxidační aktivity.

#### 3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie

##### 3.1.1 Chemikálie

- Trolox 97% ((±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina), Sigma-Aldrich, Rusko
- Kyselina gallová, Sigma-Aldrich, Čína
- ABTS 98%, (diamonná sůl 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazolin)-6-sulfonové kyseliny), Sigma-Aldrich, USA
- Uhličitan sodný p.a. bezvodý, Centralchem
- Folin-Ciocalteuovo činidlo, VWR Chemicals, Francie
- Ethanol 96%, PENTA
- Peroxodisíran draselný, Lachema
- $\alpha$ -Amylcinnamal 97 %, Sigma-Aldrich, USA
- $\alpha$ -Amylcinnamylalkohol 98 %, Sigm-Aldrich, Švýcarsko
- Anisalkohol 98 %, Sigma-Aldrich
- Benzylalkohol 99 %, Alfa Aesar
- Benzylbenzoát 99 %, Alfa Aesar
- Benzylcinnamát 99 %, Alfa Aesar
- Benzylsalicylát 99 %, Fluka analytical, Brazílie
- Cinnamaldehyd 93 %, SAFC
- Cinnamylalkohol 98 %, Alfa Aesar
- Citral 95 % cis + trans, Alfa Aesar
- Citronellol 96 %, Alfa Aesar
- Eugenol 99 %, Alfa Aesar
- Farnesol, 95 %, Sigma-Aldrich, Německo
- Geraniol 97 %, Alfa Aesar
- $\alpha$ -Hexylcinnamaldehyd 85 %, Sigma-Aldrich, USA
- 7-Hydroxycitronellal 95 %, Fluka analytical, Švýcarsko
- Isoeugenol 98 % cis + trans, Alfa Aesar
- Kumarin 98 %, Alfa Aesar
- Limonen 97 %, Alfa Aesar
- Linalool 97 %, Alfa Aesar
- Lyrál 97 %, Sigma-Aldrich, Švýcarsko
- Methyl-2-oktynoát 99 %, Sigma-Aldrich, USA
- $\alpha$ -Isomethyl jonon 85 %, Fluka analytica, Švýcarsko

##### 3.1.2 Plyny

- Helium čistota 4.8, v tlakové láhvi s redukčním ventilem (SIAD, Česká republika)

### 3.1.3 Pracovní pomůcky

- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$  (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA)
- Mikropipety BiohitProline (0,1 – 1000  $\mu\text{l}$ ), špičky
- Vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky
- Nádobí a pomůcky pro výrobu vzorků a senzorickou analýzu

### 3.1.4 Přístroje

- Plynový chromatograf TraceTM 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní detektor ISQTM LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Spektrofotometr (Helios Gamma & Delta Spectronic Unicam, USA)
- Spektrofotometr Specord 50 plus (Analytik Jena, Německo)
- Vakuová rotační odparka RV06-ML (KIKA-WERKE, Německo)
- Vodní lázeň Julabo TW12 (Německo)
- Předvážky EK-600i, A&D Instruments LTD., Japonsko
- Analytické digitální váhy (HELAGO, GR-202-EC, Itálie)
- Horkovzdušná sušárna ULM 400 (Memmert, Německo)
- Elektrický mlýnek na kávu TSM6A013B (Bosch, Slovinsko)
- Dvouplotýnkový elektrický vařič SCP 2255SS-EUE2 (Sencor, Čína)

### 3.1.5 Suroviny pro výrobu cukrovinek

- Glukózový sirup Fractal
- Cukr krystal
- Želatina (na ztužení krémů) jemně mletá, Dr. Oetker
- Kyselina citrónová monohydrát p.a., Lach-Ner
- Čerstvá meduňka nať a listy – extrakt
- Meduňka sušená nať, Rosa Canina
- Zázvor oddenek – extrakt a sušený prášek

## 3.2 Analyzované vzorky

V rámci experimentální části byly analyzovány modelové vzorky želé cukrovinek s přídavkem vybraných bylin, konkrétně meduňky a zázvoru.

Vzorky byly vyrobeny za laboratorních podmínek na FCH VUT. Základem výroby byl upravený technologický postup podle diplomové práce zabývající se optimalizací výroby želé cukrovinek s přídavkem bylinných extraktů [61] (kap. 4.1.1).

Uvedené bylinné materiály byly do cukrovinek přidávány ve formě extraktů a „prášků“ (usušené, rozemleté). Postup přípravy je blíže popsán v kap. 4.1.2. Pro výrobu meduňkových extraktů byly převzaty podmínky z práce zabývající se získáním extraktů rýmovníku [62]. Meduňkový prášek byl vyroben rozmělněním komerčně získané sušené byliny.

Výroba zázvorového extraktu a prášku byla optimalizována v rámci této práce (viz kap. 4.1.2). Extrakt byl získán macerací požadovaného množství v 70% ethanolu při 60 °C po dobu 90 minut. Prášek byl vyroben sušením zázvoru v sušárně při teplotě 35 °C po dobu 12 hodin a následným rozmělněním pomocí mlýnku.

Extrakty byly před aplikací do vzorků želé cukrovinek zahuštěny odpařením ethanolu na vakuové odparce.

Pro základní výrobu cukrovinek byl využit vodný extrakt, vyrobený macerací rozmělněných bylin ve vodě při zvýšení teplotě po určitou dobu. Meduňkový vodný extrakt byl připraven macerací při 80 °C ve vodě po dobu 10 minut, navážka 6 g / 200 ml vody. Zázvorový vodný extrakt byl získán macerací při 85 °C ve vodě po dobu 15 minut, navážka 20 g / 200 ml vody.

Suroviny použité pro výrobu cukrovinek: cukr krystal, želatina, glukózový sirup, zmíněný vodný extrakt z příslušné byliny, kyselina citrónová, extrakty bylin a bylinný prášek.

Byly vyrobeny 3 série vzorků pro optimalizaci přídavku bylinného extraktu a prášku (Tab. 10). První série vzorků obsahovala standard bez přídavku extraktů a tři různé koncentrace přídavku bylinného extraktu: 5, 10 a 15 %. V druhé sérii byl použit nejlépe hodnocený vzorek z první série a do něj byly přidány prášky bylin v koncentracích 1 a 2 %, zároveň byl vyroben pro porovnání i vzorek bez přídavku byliny. Třetí série byla vyrobena z nejlépe hodnocených výrobků obou sérií (Obr. 3) pro porovnání s komerčními výrobky.

Tab. 10 Značení vzorků želé cukrovinek během sérií optimalizace

<b>První série – přídavek bylinného extraktu do želé cukrovinek</b>		
<b>Přídavek extraktu [%]</b>	<b>Označení vzorku</b>	
0	STD	
	<b>Meduňkové želé</b>	<b>Zázvorové želé</b>
5	ME5	ZE5
10	ME10	ZE10
15	ME15	ZE15
<b>Druhá série – přídavek bylinného prášku do želé cukrovinek</b>		
<b>Přídavek prášku [%]</b>	<b>Označení vzorku</b>	
0	STD	
	<b>Meduňkové želé</b>	<b>Zázvorové želé</b>
1	MEP1	ZEP1
2	MEP2	ZEP2
<b>Optimalizované a komerční vzorky cukrovinek</b>		
<b>Název vzorku</b>	<b>Označení vzorku</b>	
<b>Meduňkový</b>	OPT-M	
<b>Komerční meduňkový</b>	K-M	
<b>Zázvorový</b>	OPT-Z	
<b>Komerční zázvorový 1</b>	K-Z1	
<b>Komerční zázvorový 2</b>	K-Z2	

Vzorky byly po vyrobení uchovávány v lednici bez přístupu světla v uzavřených nádobách, aby nedošlo ke zhoršení sensorických vlastností vlivem skladování.

Pro sensorickou analýzu nebyly vzorky nijak upraveny, pro chemické analýzy byly vzorky nakrájeny na drobné kousky (stanovení těkavých látek) nebo rozpuštěny v ethanolu (pro stanovení fenolických látek a antioxidační aktivity).

Pro srovnání byly analyzovány obdobné komerční výrobky cukrovinek (viz Tab. 11, Obr. 4), tj. s meduňkou a zázvorem.

Tab. 11 Složení komerčních vzorků cukrovinek (deklarováno na obalu)

Název	Složení
Meduňkový	Třtinový cukr, včelí med 8 %, citrónová šťáva, mletá sušená meduňka lékařská 0,2 %, meduňková silice 0,1 %
Zázvorový 1	Bio glukózový sirup, bio cukr, želírující látka: pektin; regulátory kyselosti: vinan sodný, vinan draselný; bio zázvorový prášek 0,9 %, leštící látka: karnaubský vosk
Zázvorový 2	Cukr, tapiokový škrob, zázvor 10,5 %, hydrogenovaný kokosový olej



Obr. 3 Vyrobené želé cukrovinky (zleva – standard, meduňkový, zázvorový)



Obr. 4 Komerční cukrovinky (zleva – meduňkový, zázvorový 1, zázvorový 2)

### 3.3 Použité metody a experimentální postupy

#### 3.3.1 Metoda HS-SPME-GC-MS

Pro identifikaci a semikvantifikaci těkavých látek ve vzorcích byla použita metoda headspace mikroextrakce na pevnou fázi ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (HS-SPME-GC-MS).

Vzorky cukrovinek byly rozkrájeny na drobné kousky a umístěny na dno vialek tak, aby nedošlo ke kontaktu s SPME vláknem. Navážka pro jednu analýzu byla zhruba 3 g.

### 3.3.1.1 Podmínky HS-SPME extrakce

- Doba inkubace (temperování): 10 minut
- Doba extrakce: 20 minut
- Teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru): 40 °C
- Agitátor zapnutý: 5 sekund, vypnutý: 60 sekund
- Množství vzorku: 3 g
- Hloubka ponoření vlákna do vialky: 20 mm

### 3.3.1.2 Podmínky GC-MS analýzy

- Kapilární kolona ZB-Wax (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm)
- Teplota injektoru (desorpce): 240 °C
- Doba desorpce: 20 minut
- Dávkování: splitless, ventil uzavřen: 10 minut
- Hloubka ponoření vlákna do injektoru: 40 mm
- Nosný plyn: helium, průtok: 1 ml · min<sup>-1</sup>
- Teplotní program: 40 °C s výdrží 1 min., vzestupný gradient: 5 °C/min do 220 °C s výdrží 22 min., celková doba analýzy: 60 minut
- Hmotnostní detektor v modu EI, energie ionizačních elektronů: 70 eV, teplota iontového zdroje: 200 °C, skenovací rozsah m/z: 30-370 amu, rychlost skenování: 0,2 s

### 3.3.2 Ověření validačních parametrů HS-SPME-GC-MS metody

Pro stanovení těkavých alergenů pomocí uvedené metody byly ověřeny vybrané validační parametry. Do vialek byly pipetovány směsi analytický standardů o objemu 3 ml, rozpuštěných v ethanolu. Vialky byly poté vloženy do autosampleru.

#### 3.3.2.1 Stanovení linearity

Pro stanovení linearity byla připravena směs standardů o minimálně 5 různých koncentracích s ekvidistantní vzdáleností. Jednotlivé koncentrace byly proměřeny dvakrát (n = 2) a vyneseny jako průměrná hodnota.

#### 3.3.2.2 Stanovení limitů detekce a stanovitelnosti

Limit detekce a stanovitelnosti byl vypočten pomocí vzorců (2) a (4) v kap. 2.7.4 a 2.7.5 za použití směrodatné odchylky odezvy a sklonu kalibrační křivky.

#### 3.3.2.3 Stanovení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti metody

Opakovatelnost byla vypočtena ze série 10 měření, která byla provedena v průběhu jednoho dne. Alergeny byly namíchány do roztoku ethanolu v koncentracích ve stanoveném lineárním rozsahu.

Reprodukovatelnost byla měřena 10x více pracovníky v rozmezí dvou týdnů. Pro stanovení byla připravena směs alergenů v ethanolu v jejich lineárním rozsahu.

K hodnotám byla vypočtena relativní směrodatná odchylka (RSD), ke které byla navíc spočítána RSD pomocí Howartzovi rovnice (vzorec (5)), pro určení, zda je metoda vhodná z hlediska opakovatelnosti a reprodukovatelnosti [63].

$$RSD_H = 2 \cdot c^{-0,15} [\%], \quad (5)$$

c...koncentrace, při které byla sloučenina proměřena v g · l<sup>-1</sup>.

### 3.3.3 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí metody TEAC (viz kap. 2.5.1.1)

Pro analýzu byl připraven roztok ABTS<sup>•+</sup> o koncentraci 7 mmol · l<sup>-1</sup> rozpuštěním ABTS ve vodě, k němu bylo přidáno 2,45 mmol · l<sup>-1</sup> peroxodisíranu sodného. Připravený roztok byl ponechán zabalený v alobalu v lednici po dobu min. 12 h před měřením.

Před měřením byl roztok ABTS<sup>•+</sup> zředěn 60% ethanolem na absorbanci  $A = 0,7$ . Vzorčky byly měřeny při vlnové délce  $\lambda = 734$  nm proti ethanolu. Do kyvety byly napipetovány 2 ml naředěného roztoku ABTS<sup>•+</sup> a 20  $\mu$ l destilované vody, byla změřena absorbance ( $A_0$ ).

Pro měření bylo k upravenému roztoku ABTS<sup>•+</sup> přidáno 20  $\mu$ l vzorku a byla sledována změna absorbance v časovém intervalu 10 minut ( $A_I$ ). Během měření byly vždy vzorky a roztoky uchovávány v temnu.

Výsledná absorbance ( $A$ ) byla vypočtena pomocí vzorce (6):

$$A = A_0 - A_I \quad [-]. \quad (6)$$

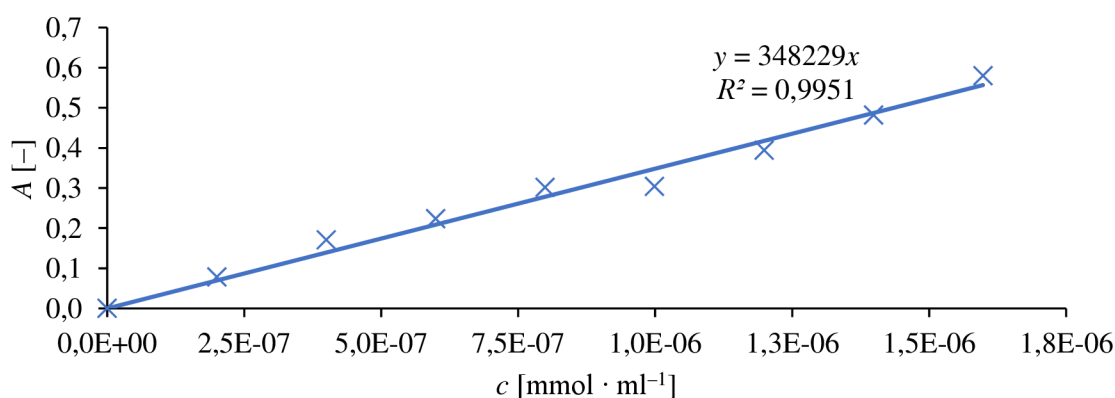
Procenta zhášení radikálu bylo vypočteno pomocí vzorce (7):

$$\text{zhášení radikálu} = 100 \cdot \frac{A_0 - A_I}{A_0} \quad [\%]. \quad (7)$$

#### 3.3.3.1 Příprava kalibrační křivky (standard Trolox)

Kalibrační křivka byla sestrojena za použití standardního roztoku Troloxu, který byl ředěn 60% ethanolem na koncentrace v rozmezí 0,2-1,4 · 10<sup>-6</sup> mmol · ml<sup>-1</sup> (Obr. 5). Byla sestrojena zředěním standardního zásobního roztoku Troloxu 60%. Slepý vzorek byl ethanol.

Absorbance byla měřena při  $\lambda = 734$  nm proti slepému vzorku. Výsledky měření byly vyjádřeny jako ekvivalent TEAC čili látkové množství Troloxu odpovídající antioxidační aktivitě vzorku v mmol<sub>TE</sub> · g<sup>-1</sup> vzorku.



Obr. 5 Kalibrační křivka Troloxu

### 3.3.4 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu fenolů

Celkový obsah fenolů byl stanoven spektrofotometricky pomocí metody Folin-Ciocalteu (kap. 2.5.4).

Nejprve byla připravena činidla. Folin-Ciocalteuův roztok byl zředěn vodou v poměru 1:9. Nasycený roztok uhličitanu sodného byl získán smícháním zhruba 7,5 g v 95 ml vody.

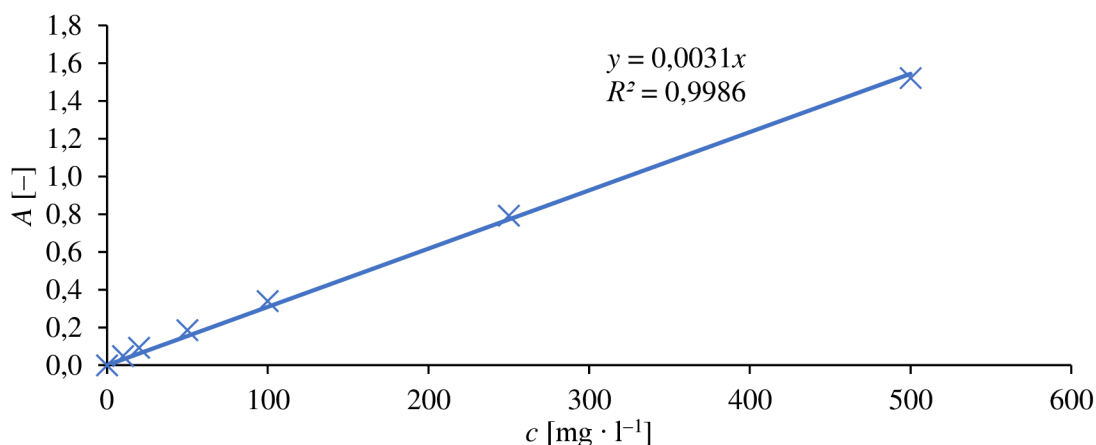
Pro analýzu bylo do zkumavek přidáno 100  $\mu$ l vzorku, 1 ml vody a 1 ml zředěného Folin-Ciocalteuova činidla. Roztok byl promíchán a ponechán 5 minut stát, poté byl přidán

1 ml roztoku uhličitanu sodného. Roztok byl promíchán a ponechán reagovat 30 minut v temnotě. Paralelně byl namíchání slepý vzorek, který obsahoval 100  $\mu\text{l}$  vody místo vzorku. Po uplynutí doby byla změřena absorbance při vlnové délce  $\lambda = 765 \text{ nm}$  proti slepému vzorku.

#### 3.3.4.1 Příprava kalibrační křivky (standard kyselina gallová)

Pro sestavení kalibrační křivky byly připraveny kalibrační roztoky kyseliny gallové o koncentracích 10-500  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (Obr. 6). Absorbance byla měřena při  $\lambda = 765 \text{ nm}$  proti slepému vzorku.

Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE – Gallic Acid Equivalent), tj. mg kyseliny gallové na 1 g vzorku.



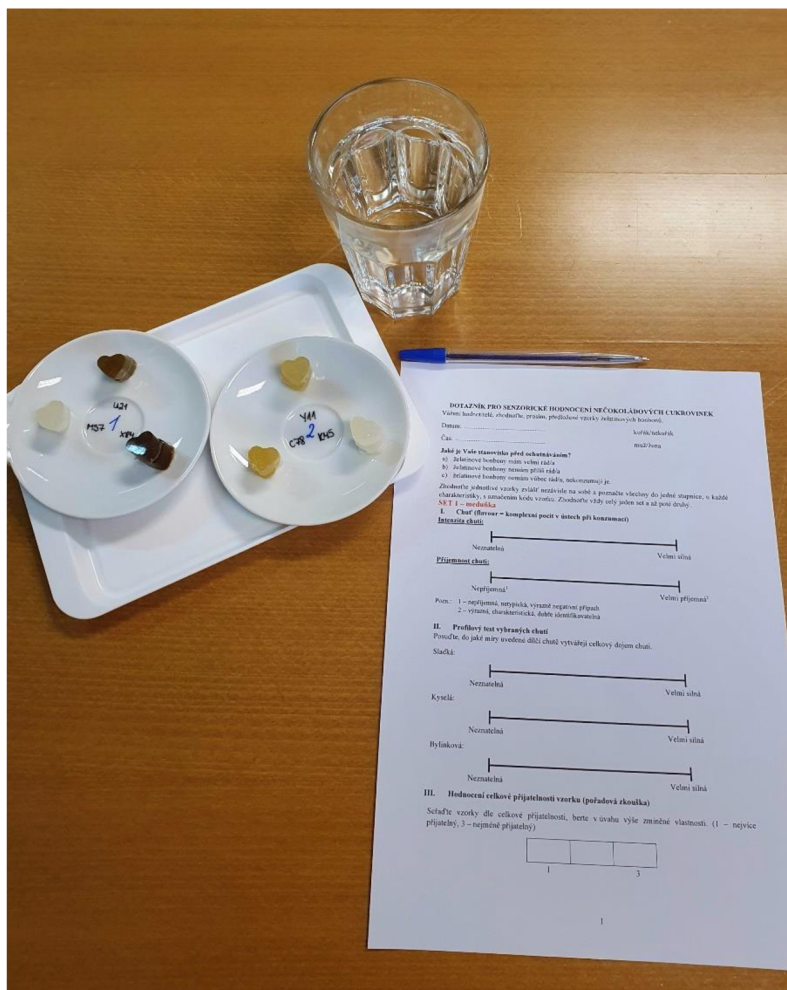
Obr. 6 Kalibrační křivka kyseliny gallové

#### 3.3.5 Senzorická analýza

Senzorická analýza proběhla třikrát pro získání „optimalizované“ cukrovinky s přídavkem bylin a prášků, která byla poté srovnána s komerčními produkty obdobného typu. Optimalizované výrobky byly zároveň použity pro chemickou analýzu.

Vzorky pro senzorickou analýzu byly nachystány na talířky, zakódovány a předloženy k hodnocení (viz Obr. 7). Jako neutralizátor chuti byla použita voda. Panel hodnotitelů se skládal ze studentů a zaměstnanců Fakulty chemické VUT. Hodnocení se zúčastnilo vždy 25 respondentů.





Obr. 7 Vzorky nachystané pro senzoričnou analýzu

Senzoričká analýza byla zaměřena především na hodnocení chuti. Skládala se z hodnocení pomocí nestrukturovaných grafických stupnic (10 cm), pořadové zkoušky a párové porovnávací zkoušky. Byla hodnocena intenzita (neznatelná → velmi silná) a příjemnost chuti (nepříjemná → velmi příjemná). Součástí byl také profilový test, kde deskriptory chuti byly – sladká, kyselá, bylinná. Celková přijatelnost byla hodnocena pomocí pořadové zkoušky (nejvíce přijatelný → nejméně přijatelný) a párové porovnávací zkoušky. Poslední senzoričká analýza byla navíc doplněna o slovní popis chuti a deskriptoru – „jiná chuť“, u profilového testu.

Použité senzoričké dotazníky jsou uvedeny v přílohách 1-3.

### 3.3.6 Statistické vyhodnocení výsledků

Získaná data byla zpracována a vyhodnocena pomocí programu Microsoft Excel (Microsoft 365) a Statistica 13. Analýzy byly provedeny na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Výsledky senzoričké analýzy jsou vyjádřeny graficky jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (normálně distribuovaná data) nebo medián  $\pm$  interkvartilový rozptyl (nenormálně distribuovaná data) všech hodnotitelů ( $n = 25$ ). Hodnoty odečtené ze stupnic jsou uváděny v mm. Pro statistické vyhodnocení byla použita parametrická analýza rozptylu ANOVA (normální distribuce dat) a neparametrická analýza rozptylu ANOVA (Kruskal-Wallisův test pro nenormální distribuci dat) s využitím dalších statistických testů (Shapiro-Wilke, Tukey).

Celkový obsah fenolů ( $n = 3$ ) a antioxidační aktivita ( $n = 2$ ) jsou vyjádřeny jako průměr z více měření  $\pm$  směrodatná odchylka a znázorněny pomocí Microsoft Excel.

Vyextrahované aromaticky aktivní látky ve vzorcích a standardech byly identifikovány pomocí programu Xcalibur 2.2 (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA) na základě srovnání hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter a srovnání retenčních indexů s publikovanými hodnotami. Obsah jednotlivých skupin identifikovaných látek je vyjádřen semikvantitativně pomocí ploch píků na chromatogramu. Vzorky cukrovinek a extraktů byly analyzovány třikrát ( $n = 3$ ) a standardní sloučeniny pro ověření validačních parametrů dvakrát ( $n = 2$ ), výsledky jsou vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce navazuje na předchozí diplomové práce, které se zabývaly optimalizací postupu výroby cukrovinek a optimalizací získávání extraktů z různých přírodních materiálů [61], [62]. Podstatou této práce je příprava bylinných extraktů a optimalizace jejich aplikace do vyrobených vzorků želé cukrovinek.

Vyrobené vzorky byly podrobeny sensorické analýze a chemickým analýzám, pomocí kterých byl stanoven obsah fenolů, antioxidantů a těkavých látek.

Uvedené byliny mají vysoký obsah bioaktivních látek, hlavním cílem bylo zjistit, zda a jakým způsobem přídavek bylinných extraktů ovlivní sensorickou a nutriční hodnotu cukrovinek.

Výroba želé cukrovinek vycházela ze standardního technologického postupu popsaného v kap. 2.1.2.1. Byliny, ze kterých byly vyráběny extrakty aplikované do vzorků želé cukrovinek, byly meduňka (*Melissa officinalis*) a zázvor (*Zingiber officinale*). Proces výroby extraktů je uveden v kap. 4.1.2.

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS (kap. 2.4.3.1), jejíž vybrané validační parametry (lineární rozsah, retenční index, limit detekce a stanovení, opakovatelnost, reprodukovatelnost) byly ověřeny. Celkový obsah fenolů byl stanoven za pomoci Folin-Ciocalteuova činidla spektrofotometricky (kap. 2.5.4) a antioxidační aktivita byla stanovena pomocí metody TEAC (kap. 2.5.1.1). Sensorická analýza byla provedena za použití metod uvedených v kap. 2.6.2.

### 4.1 Výrobní postup želé cukrovinek

#### 4.1.1 Příprava a postup výroby želé

Přípravou želé cukrovinek s optimálními vlastnostmi z hlediska chuti a konzistence se zabývala diplomová práce Matěje Rychetského, postup přípravy byl proto převzat z této práce [61].

Základem výroby byla příprava tzv. cukrosirupového roztoku tvořeného z 50 % sacharózového roztoku a glukózového sirupu v poměru 55:45. Pro zvýraznění bylinné chuti byl pro výrobu sacharózového roztoku použit vodný extrakt příslušné byliny. Směs byla zahřata na teplotu 80 °C. Paralelně byl připraven roztok želatiny rozmícháním ve studeném vodném bylinném extraktu. Nabobtnalá želatina byla přidávána do cukrosirupového roztoku při teplotě 80 °C a směs byla odstavena z plamene. Za stálého míchání byla chlazena až na teplotu zhruba 50 °C, kdy byly do směsi přidány 2 % kyseliny citrónové, požadované množství extraktu a prášku (viz optimalizace kap. 4.2 a 4.3). Následně byla hmota nalita do silikonových forem, ve kterých byla ponechána 30 minut při teplotě 20 °C a následně vložena do chladničky na dobu 48 hodin.

#### 4.1.2 Příprava a postup výroby bylinných extraktů a zázvorového prášku

Postup přípravy meduňkového extraktu byl převzat z práce zabývající se optimalizací výroby extraktu z rýmovníku vzhledem k tomu, že se jedná o byliny stejné čeledi [62]. Zázvorový extrakt byl optimalizován v rámci této práce. „Nejlepší“ extrakt byl poté vybrán pro aplikaci do želé cukrovinek.

Oba extrakty (viz Obr. 8) byly připraveny pomocí macerace, což je jednoduchá a levná metoda k extrakci bylinných látek a charakterizovány z hlediska obsahu těkavých a fenolických látek a antioxidační aktivity (viz kap. 4.5).

Nejvhodnější podmínky pro extrakci meduňky byla macerace ve 40% ethanolu po dobu 60 minut ve vodní lázni o teplotě 60 °C. Navážka meduňky byla 10 g / 100 ml.

Zázvorový extrakt byl připravován v 70% ethanolu při teplotě 60 °C po dobu 60 a 90 minut ve vodní lázni a při 20 °C po dobu 24 hodin. Jako „nejlepší“ byl zvolen extrakt, který byl připraven při 60 °C po dobu 90 minut. Navážka byla vždy 10 g / 50 ml ethanolu.



*Obr. 8 Vyrobené bylinné extrakty zázvor (vlevo) a meduňka (vpravo)*

K přípravě extraktů byly použity čerstvé byliny, které byly rozmělněny v elektrickém mlýnku a smíchány s roztokem ethanolu a ponechány macerovat. Po uplynutí požadované doby macerace byly vzorky přefiltrovány přes filtrační papír a odpařeny na vakuové odparce pro zakoncentrování všech složek extraktu a odstranění ethanolu, který je nevhodný pro výrobu cukrovinek. Nevýhodou odpařování je teoretická možnost ztráty některých bioaktivních látek.

Meduňkový prášek byl vyroben rozmixováním již sušené komerční meduňky a byl skladován při laboratorní teplotě v temnu v uzavřené nádobě.

Pro výrobu zázvorového prášku byl zázvor nakrájen na plátky a sušen v sušárně po dobu 12 hodin při teplotě 35 °C. Poté byly kousky rozmixovány na prach. Hotový prášek byl skladován v temnotě při laboratorní teplotě v uzavřené nádobě.

#### **4.2 Optimalizace aplikace bylinných extraktů a jejich vliv na senzoryckou kvalitu**

Uvedené bylinné materiály byly do cukrovinek přidávány nejprve ve formě extraktů a posléze „prášků“. Přičemž byly hodnoceny zvlášť vzorky s meduňkou a zvlášť se zázvorem.

V prvním experimentu byly vždy připraveny tři série vzorků o různých koncentracích extraktu (5, 10 a 15 %). Pro porovnání byl připraven i standard bez přídavku extraktů. Optimální množství přidaného extraktu bylo hodnoceno pomocí senzorycké analýzy – tedy senzorycky „nejlepší“ produkt. Hodnotitelé posuzovali především chuť, kde byla hodnocena její příjemnost a intenzita, dále pak jednotlivé deskripty (sladká, kyselá, bylinná) a na závěr seřadili

předložené vzorky dle přijatelnosti s ohledem na předchozí kritéria. Formulář je přiložen v příloze 1.

#### 4.2.1 Želé cukrovinky s meduňkovým extraktem

Vyrobené vzorky želé cukrovinek s meduňkovým extraktem, které byly podány k sensorické analýze lze vidět na Obr. 9.



Obr. 9 Želé cukrovinky s přidavkem meduňkového extraktu (zleva přidavek 5 %, 10 %, 15 %)

Hodnoty získané ze sensorické analýzy jsou uvedeny v Tab. 12. Při statistickém zpracování dat byly hodnoty kyselé a bylinné chuti s nenormální distribucí, jsou proto uvedena ve formě mediánů a interkvartilových rozptylů, zbytek hodnot je uveden ve formě průměru a směrodatné odchylky.

Tab. 12 Sensorické hodnocení chuti želé cukrovinek s různou koncentrací meduňkového extraktu

Kód*	Příjemnost [mm]	Intenzita [mm]	Sladká [mm]	Kyselé [mm]	Bylinná [mm]
STD	60 ± 21 a	40 ± 24 a	50 ± 27 a	36 ± 44 a	12 ± 15 a
ME5	54 ± 20 a	43 ± 23 a	44 ± 18 a	31 ± 19 a	18 ± 16 a
ME10	53 ± 20 a	44 ± 21 a	47 ± 20 a	39 ± 22 a	32 ± 16 b
ME15	59 ± 27 a	53 ± 23 a	44 ± 24 a	35 ± 40 a	44 ± 42 b

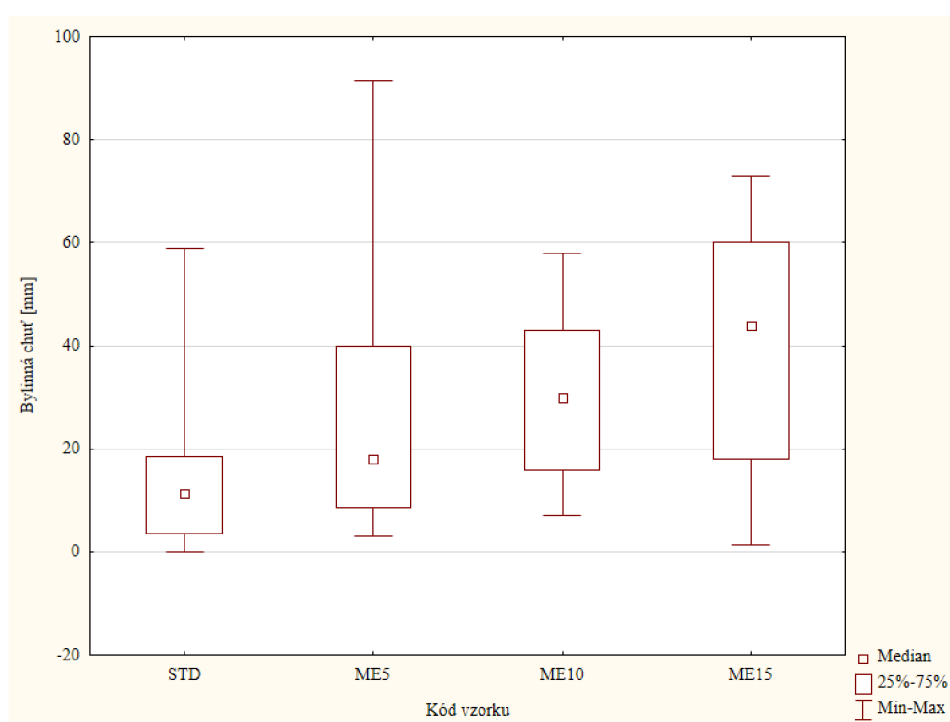
\* Kódování vzorků viz Tab. 10, vyhodnocení ANOVY – podobné vzorky jsou popsány stejným písmenem

Příjemnost chuti byla nejnižší u vzorku STD, zajímavostí je mírně vyšší příjemnost vzorku ME5 než ME10, přičemž vzorek ME15 s nejvyšším přidavkem extraktu byl hodnocen jako nejpříjemnější ze všech. V intenzitě chuti byl jako nejintenzivnější hodnocen vzorek STD a až poté ME15.

Přestože byly všechny vzorky vyrobeny stejným základním postupem podle stejné receptury (cukr, glukózový sirup, kyselina citrónová), v hodnocení sladkosti a kyselosti se lišily. Ve sladké chuti byly vzorky hodnoceny relativně podobně, nejsladší byl vzorek STD a nejméně sladký ME15. Kyselé chuť byla hodnocena také podobně, kde byl vzorek ME10 hodnocen jako nejkyselejší. Lze říci, že s přidavkem extraktu se sladkost a kyselost vzorků mírně snižovala, pravděpodobně byla potlačena „hořkou“ chutí meduňky.

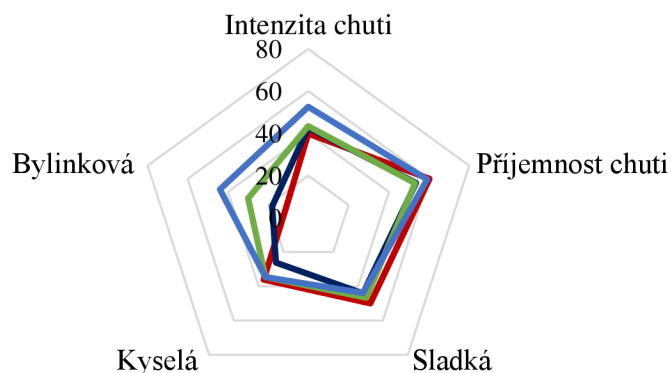
V případě bylinné chuti byl očekávaný patrný vzrůstající trend. Zajímavá je zjištěná hodnota u vzorku STD, kde nebyl žádný přídavek extraktu, ale i přesto někteří hodnotitelé chuť meduňky cítili. Pravděpodobně mohlo dojít k vsugerování bylinné chuti či nedostatečné neutralizaci chuti při sensorickém hodnocení.

Celkově mezi vzorky v rámci jednotlivých proměnných nebyly příliš velké rozdíly (viz Tab. 12). Jedinou výjimkou je bylinná chuť (Obr. 10). Bylo provedeno statistické vyhodnocení, kde p-hodnoty byly vyšší než hladina významnosti 0,05 až na zmíněnou bylinnou chuť (intenzita chuti –  $p = 0,2309$ ; příjemnost chuti –  $p = 0,5506$ ; sladká chuť –  $p = 0,7572$ ; kyselá chuť –  $p = 0,5071$  a bylinná chuť –  $p = 0,0004$ ). Pomocí podrobnějšího porovnávacího zpracování bylo vyhodnoceno, že vzorek STD je podobný vzorku ME5 s p-hodnotou  $p = 0,0982$ , který je zároveň identický se vzorkem ME10, kde  $p = 1,000$  a podobný vzorku ME15 ( $p = 0,6462$ ). Vzorek ME10 je současně identický se vzorkem ME15 ( $p = 1,000$ ).



Obr. 10 Vliv množství přidaného meduňkového extraktu na vnímání bylinné chuti (zleva – bez extraktu, 5 %, 10 %, 15 % extraktu)

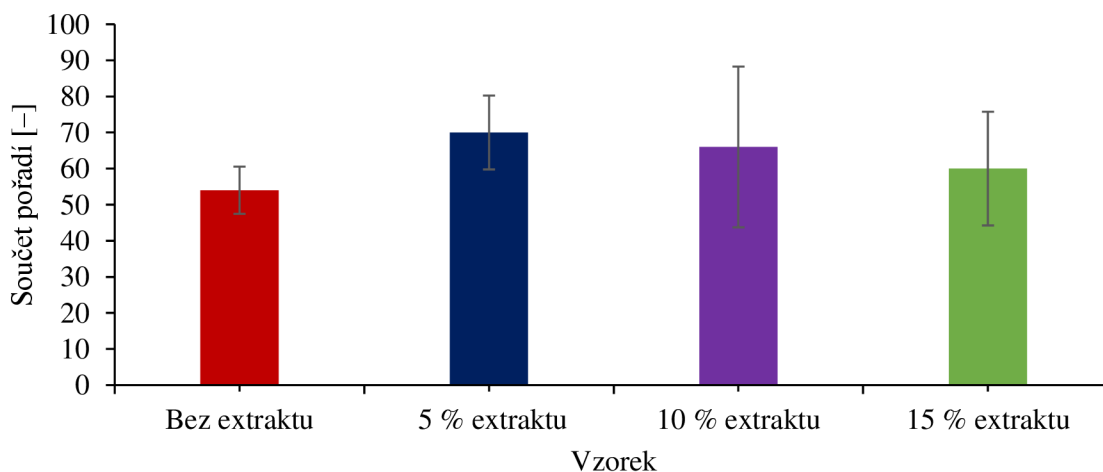
V grafu (Obr. 11) lze pozorovat podobnost vzorků, co se týče příjemnosti, intenzity chuti, kyselé a sladké chuti. U bylinné chuti lze vidět rozdíl.



— Bez extraktu — 5 % extraktu — 10 % extraktu — 15 % extraktu

Obr. 11 Vliv množství přidaného meduňkového extraktu z hlediska všech parametrů

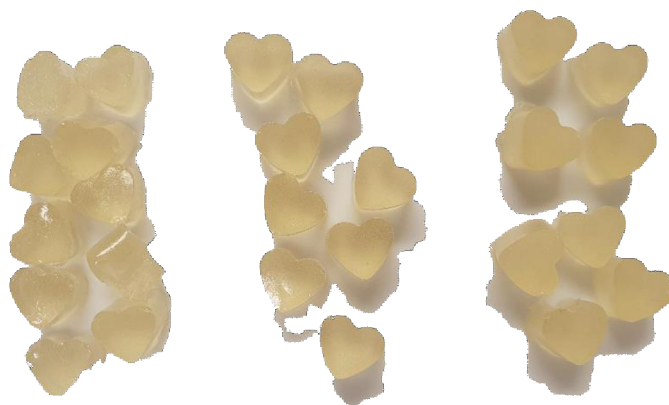
Velmi zajímavé je, že v pořadovém testu (viz Obr. 12), hodnotitelé zvolili vzorek STD jako nejlepší a hned po něm ME15, který obsahuje nejvyšší množství extraktu. Mezitím co vzorek ME5 byl vyhodnocen jako nejhorší. Pro další experimenty byl použit nejlépe hodnocený vzorek ME15.



Obr. 12 Vliv množství přidaného meduňkového extraktu na přijatelnosti vzorku (nejvíce → nejméně přijatelný vzorek)

#### 4.2.2 Želé cukrovinky se zázvorovým extraktem

V druhé části sensorické analýzy posuzovatelé hodnotili vzorky se zázvorovým extraktem (viz Obr. 13). Stejně jako meduňkové vzorky byly zakódovány, kde standard bez přídavku STD, přídavek 5 % ZE5, přídavek 10 % ZE10 a přídavek 15 % ZE15.



Obr. 13 Želé cukrovinky se zázvorovým extraktem (zleva přidavek 5 %, 10 %, 15 %)

Hodnoty ze sensorické analýzy lze vidět v Tab. 13. Ve statistickém zpracování byla zjištěna nenormální distribuce dat u příjemnosti, kyselé a bylinné chuti, a proto byly tyto hodnoty zobrazeny ve formě medián  $\pm$  interkvartilový rozptyl. Zbytek hodnot byl vyjádřen jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka.

Tab. 13 Sensorické hodnocení chuti želé cukroviněk s různou koncentrací zázvorového extraktu

Kód*	Příjemnost [mm]	Intenzita [mm]	Sladká [mm]	Kyselá [mm]	Bylinná [mm]
STD	50 $\pm$ 22 a	36 $\pm$ 23 a	49 $\pm$ 21 a	43 $\pm$ 40 a	19 $\pm$ 31 a
ZE5	59 $\pm$ 28 a	66 $\pm$ 17 b	40 $\pm$ 21 a	26 $\pm$ 31 a	70 $\pm$ 26 b
ZE10	71 $\pm$ 23 a	66 $\pm$ 15 b	42 $\pm$ 20 a	23 $\pm$ 36 a	62 $\pm$ 16 b
ZE15	70 $\pm$ 22 a	76 $\pm$ 15 b	42 $\pm$ 17 a	29 $\pm$ 20 a	76 $\pm$ 10 b

\* Kódování vzorků viz Tab. 10, vyhodnocení ANOVY – podobné vzorky jsou popsány stejným písmenem

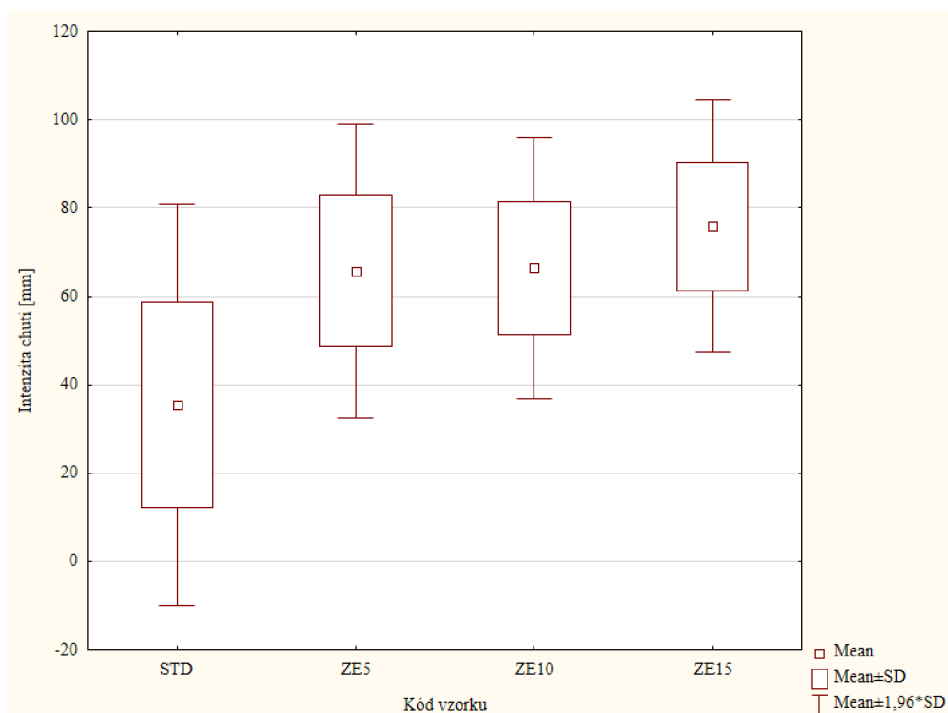
Zázvorové cukrovinky byly hodnoceny velmi různorodě, což velmi záviselo na oblíbenosti samotného zázvoru. I přesto byl vyhodnocen vzorek ZE10 jako nejpříjemnější a s velmi blízkou hodnotou ZE15. Nejméně příjemný byl vzorek STD, který byl spíše neutrální chuti. Intenzita i příjemnost chuti se zvyšovala se vzrůstajícím přidavkem extraktu.

V případě sladké a kyselé chuti došlo s přidavkem extraktu k jejich potlačení, v případě sladké chuti mírnému, v případě kyselé k významnějšímu. Zajímavostí je, že vzorek STD byl vyhodnocen jako nejsladší, ale zároveň i nejkyselejší. Nejvíce znatelná bylinná chuť byla u vzorku ZE15, ale hodnotitelé zvolili vzorek ZE5 jako výraznější než ZE10. Stejně jako u meduňkového extraktu posuzovatelé cítili chuť zázvoru i u vzorku STD.

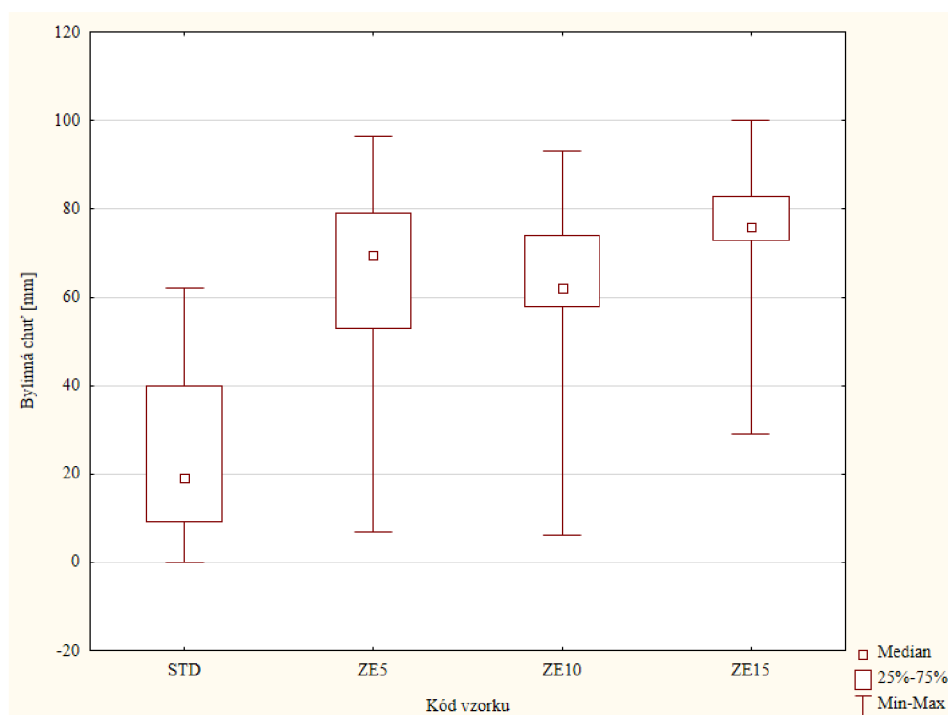
Pomocí statistických testů byla zjišťována odlišnost vzorků mezi sebou. Z hlediska příjemnosti, sladké a kyselé chuti se vzorky mezi sebou nelišily (Tab. 13), kde příjemná chuť –  $p = 0,4795$ ; sladká chuť –  $p = 0,4543$  a kyselá chuť –  $p = 0,9439$ . P-hodnota u intenzity a bylinné chuti byla vyhodnocena na  $p = 0,0000$ , což znamená, že vzorky se mezi sebou významně lišily. Podrobnější analýza ukázala, že vzorek ZE5 byl identický ke vzorku ZE10 s  $p = 1,000$  a nelišil se od vzorku ZE15 s  $p$ -hodnotou  $p = 0,2540$  a zároveň byl podobný vzorku ZE10 s  $p = 0,3755$ , vzorek STD byl odlišný od všech s  $p$ -hodnotami nižšími než hladina významnosti 0,05.



Grafické znázornění statistického zpracování intenzity chuti a bylinné chuti je na Obr. 14-15.

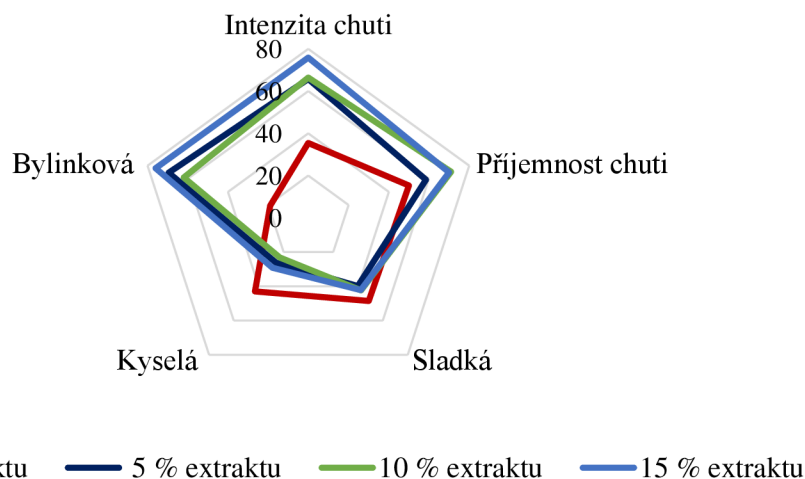


Obr. 14 Vliv množství přidaného zázvorového extraktu na intenzitě chuti (zleva – bez extraktu, 5 %, 10 %, 15 % extraktu)



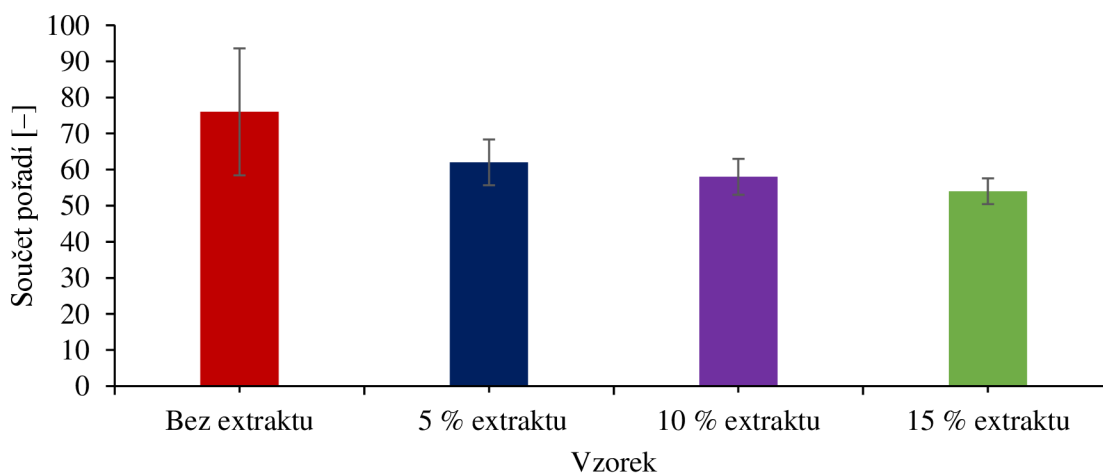
Obr. 15 Vliv množství přidaného zázvorového extraktu na vnímání bylinné chuti (zleva – bez extraktu, 5 %, 10 %, 15 % extraktu)

V grafu (Obr. 16) lze pozorovat podobnost vzorků s přidaným extraktem a jejich výrazné odlišení od standardu. Na rozdíl od vzorků s meduňkovým extraktem (viz Obr. 11) kde rozdíly nejsou tak výrazné.



Obr. 16 Vliv množství přidaného zázvorového extraktu z hlediska všech parametrů

Podle pořadového testu byl opět hodnocen nejlépe vzorek s nejvyšším množstvím extraktu (Obr. 17) a zároveň zde lze pozorovat jakýsi trend, kde se vzrůstající koncentrací extraktu ve vzorku rostla jeho přijatelnost. Koncentrace extraktu ve vzorku ZE15 byla použita pro další experimenty.



Obr. 17 Vliv množství přidaného zázvorového extraktu na přijatelnosti vzorku (nejvíce → nejméně přijatelný vzorek)

### 4.3 Optimalizace aplikace sušených bylin a jejich vliv na sensorickou kvalitu

Pro optimalizaci přidavku sušených bylin ve formě prášku do vzorků cukrovinek (druhý experiment) byly zvoleny dvě koncentrace – 1 a 2 %. Pro výrobu byl použit nejlépe hodnocený vzorek z předchozí optimalizace (viz kap. 4.2), do kterého byl aplikován prášek. Hodnoceno bylo opět pomocí sensorické analýzy, kde pro porovnání měli hodnotitelé k dispozici standard bez přidavku extraktu a prášku. Sensorická analýza se skládala ze stejných testů jako v přechodném experimentu (viz formulář v příloze 2).

### 4.3.1 Želé cukrovinky s meduňkovým práškem

Meduňkové želé cukrovinky s přidavkem prášku lze vidět na Obr. 18. Vzorky byly opět zakódovány, kde standard bez přidavku STD, 1 % přidavek prášku MEP1 a 2 % přidavek prášku MEP2.



Obr. 18 Želé cukrovinky s meduňkovým extraktem a práškem (zleva přidavek 1 %, 2 %)

Zpracovaná data ze senzoričké analýzy lze vidět v Tab. 14. Hodnoty kyselá a bylinné chuti byly nenormální distribuce, tudíž pro zobrazení byl použit medián  $\pm$  interkvartilový rozptyl, pro zbytek dat byl použit průměr  $\pm$  směrodatná odchylka.

Tab. 14 Senzorické hodnocení chuti želé cukrovinek s různou koncentrací meduňkového prášku

Kód*	Příjemnost [mm]	Intenzita [mm]	Sladká [mm]	Kyselá [mm]	Bylinná [mm]
STD	64 $\pm$ 21 a	36 $\pm$ 22 a	47 $\pm$ 24 a	59 $\pm$ 42 a	15 $\pm$ 24 a
MEP1	64 $\pm$ 26 a	53 $\pm$ 23 b	45 $\pm$ 20 a	53 $\pm$ 23 a	54 $\pm$ 22 b
MEP2	57 $\pm$ 23 a	65 $\pm$ 22 b	44 $\pm$ 20 a	55 $\pm$ 21 a	73 $\pm$ 20 b

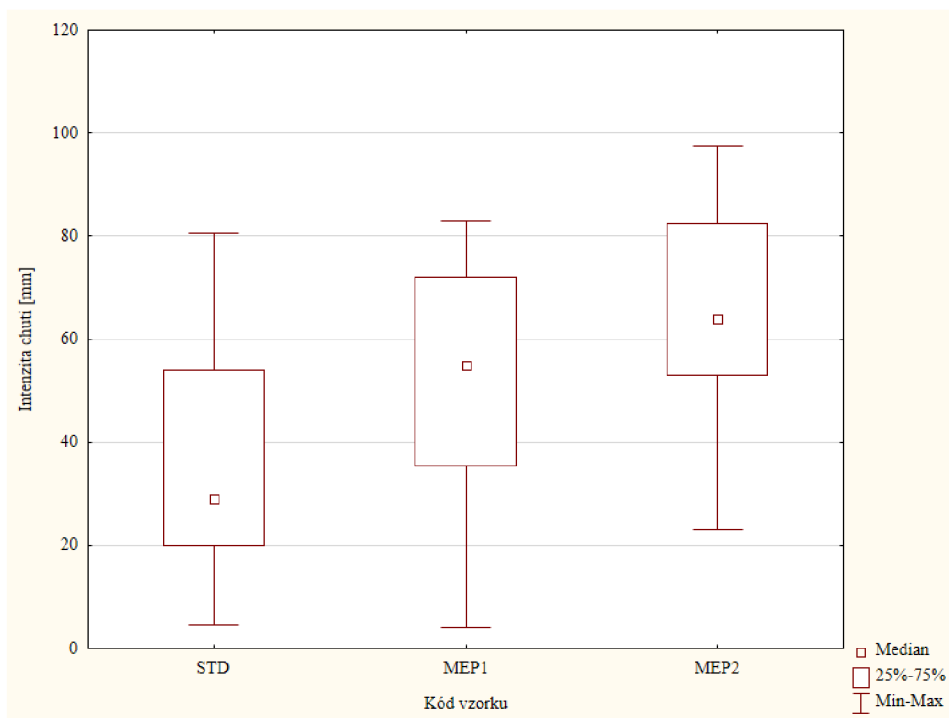
\* Kódování vzorků viz Tab. 10, vyhodnocení ANOVY – podobné vzorky jsou popsány stejným písmenem

Se vzrůstající koncentrací prášku ve vzorku se snižovala příjemnost, ale zvyšovala intenzita chuti cukrovinky.

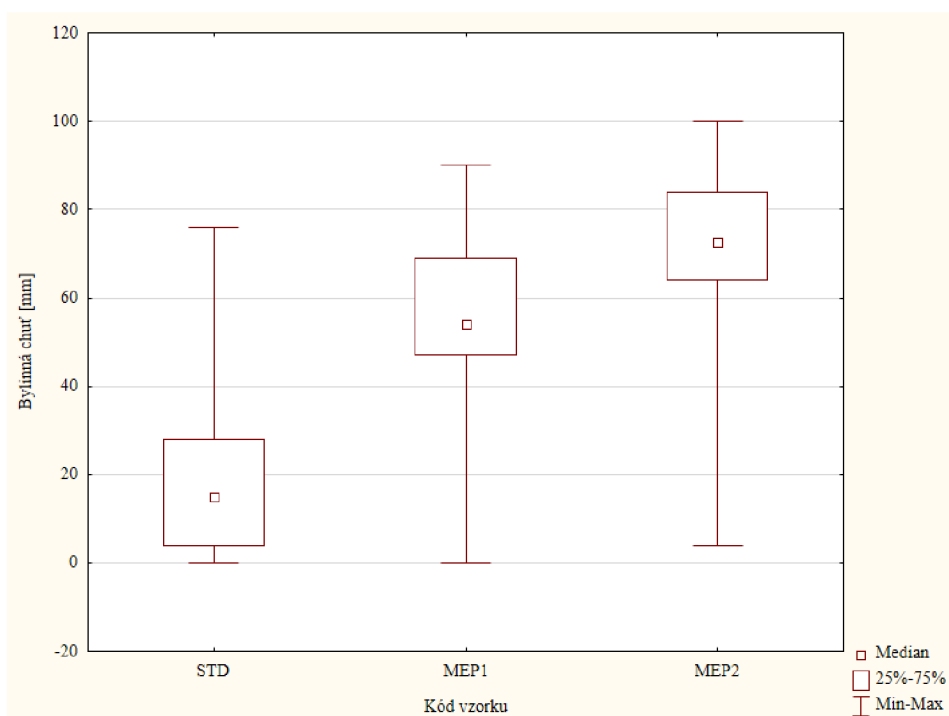
Sladká chuť se s přidavkem prášku mírně snižovala, jako nejvíce sladký byl vnímán vzorek STD, pravděpodobně došlo k potlačení sladkosti vzorků. Kyselou chuť hodnotili posuzovatelé velmi podobně, také došlo k mírnému snížení. U bylinné chuti bylo možné podle očekávání pozorovat výrazně se zvyšující intenzitu, se zvyšující se koncentrací prášku ve vzorku cukrovinky. Opět hodnotitelé cítili chuť meduňky u vzorku STD, i když velmi slabé intenzity. Grafické znázornění intenzity chuti a bylinné chuti je na Obr. 19-20.

Byla provedena statistická analýza podobnosti vzorků, kde se vzorky v příjemnosti, sladké a kyselá chuti mezi sebou nelišily (Tab. 14), p-hodnoty jsou vyšší než hladina významnosti 0,05. V intenzitě a bylinné chuti se vzorky mezi sebou významně lišily. Podrobnější statistické zpracování rozdělilo vzorky podle intenzity a bylinné chuti na dvě skupiny, kde MEP1 a MEP2 tvořily jednu skupinu a druhou STD. P-hodnoty jsou příjemnost chuti –  $p = 0,4565$ ; intenzita

chuti –  $p = 0,000079$ ; sladká chuť –  $p = 0,8738$ ; kyselá chuť –  $p = 0,6706$  a bylinná chuť –  $p = 0,0000$ .

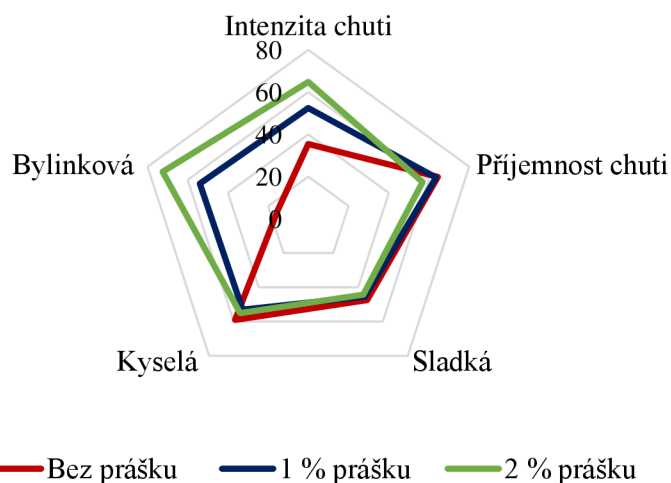


Obr. 19 Vliv množství přidaného meduňkového prášku na intenzitě chuti (zleva – bez prášku, 1 %, 2 % prášku)



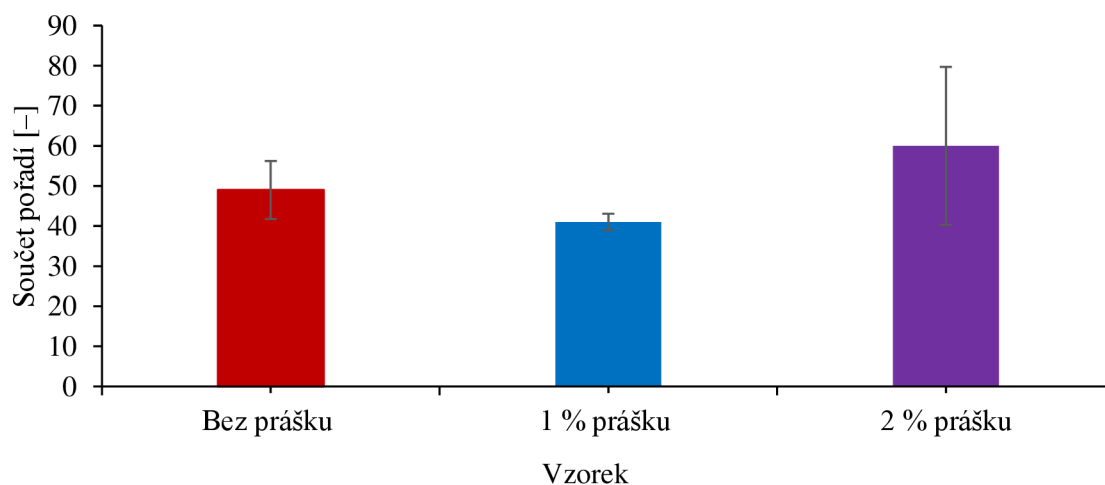
Obr. 20 Vliv množství přidaného meduňkového prášku na vnímání bylinné chuti (zleva – bez prášku, 1 %, 2 % prášku)

Souhrnně byl vytvořen graf (Obr. 21), ve kterém jsou zobrazeny všechny parametry hodnocené během sensorické analýzy. Zde lze pozorovat narůstající hodnoty intenzity a bylinné chuti a zároveň odlišnost vzorků MEP1 a MEP2 od STD.



Obr. 21 Vliv množství přidaného meduňkového prášku z hlediska všech parametrů

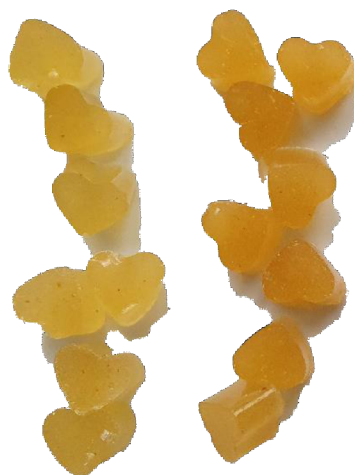
V pořadovém testu (Obr. 22) byl nejlépe hodnocen vzorek MEP1 a nejhůře MEP2, pravděpodobně kvůli hořkosti meduňky, kterou způsobila vyšší koncentrace prášku. Vzorek MEP1 byl tedy zvolen pro další sensorickou analýzu k porovnání s komerčním vzorkem.



Obr. 22 Vliv množství přidaného meduňkového prášku na přijatelnosti vzorku (nejvíce → nejméně přijatelný vzorek)

#### 4.3.2 Želé cukrovinky se zázvorovým práškem

Želé cukrovinky se zázvorovým práškem jsou na Obr. 23. Hodnotitelé opět měli k dispozici pro porovnání vzorek bez přídavku extraktu (STD) a ochutnávali dvě koncentrace přídavku prášku, 1 % (ZEP1) a 2 % přídavek (ZEP2).



Obr. 23 Želé cukrovinky se zázvorovým extraktem a práškem (zleva přidavek 1 %, 2 %)

Vyhodnocená data intenzity, kyselé a bylinné chuti byla nenormální distribuce při statistickém zpracování, a proto byla vyjádřena ve formě medián  $\pm$  interkvartilový rozptyl. Příjemnost a sladká chuť vzorků byl vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka.

Tab. 15 Sensorické hodnocení chuti želé cukroviněk s různou koncentrací zázvorového prášku

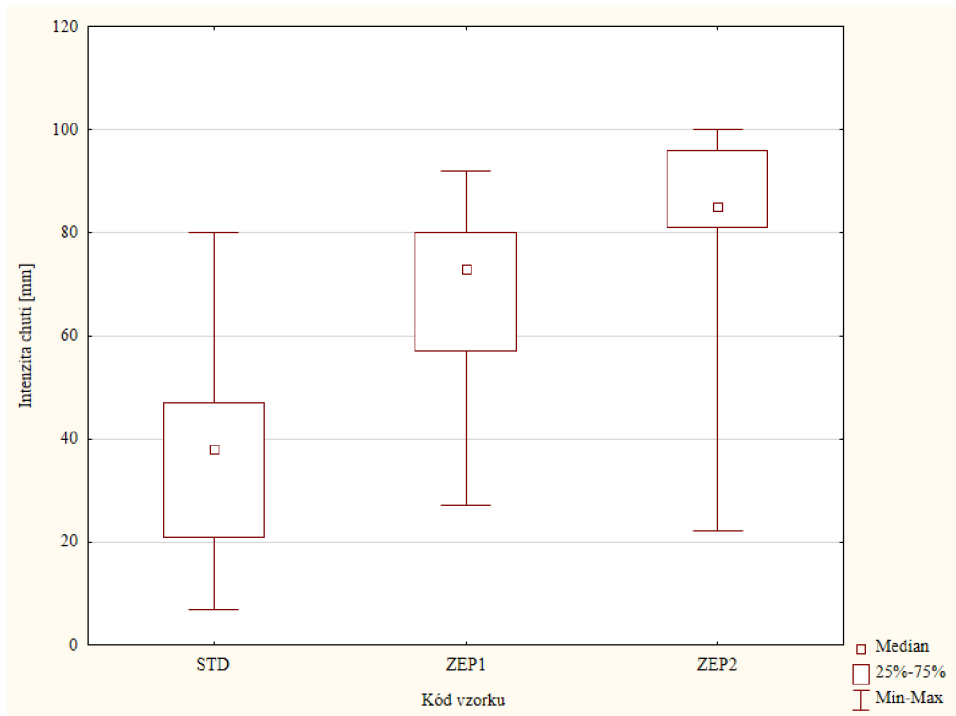
Kód*	Příjemnost [mm]	Intenzita [mm]	Sladká [mm]	Kyselá [mm]	Bylinná [mm]
STD	61 $\pm$ 19 a	38 $\pm$ 26 a	56 $\pm$ 17 a	42 $\pm$ 23 a	22 $\pm$ 22 a
ZEP1	59 $\pm$ 22 a	73 $\pm$ 23 b	43 $\pm$ 14 b	48 $\pm$ 22 a	66 $\pm$ 18 b
ZEP2	52 $\pm$ 30 a	85 $\pm$ 15 c	39 $\pm$ 19 b	43 $\pm$ 41 a	85 $\pm$ 17 b

\* Kódování vzorků viz Tab. 10, vyhodnocení ANOVY – podobné vzorky jsou popsány stejným písmenem

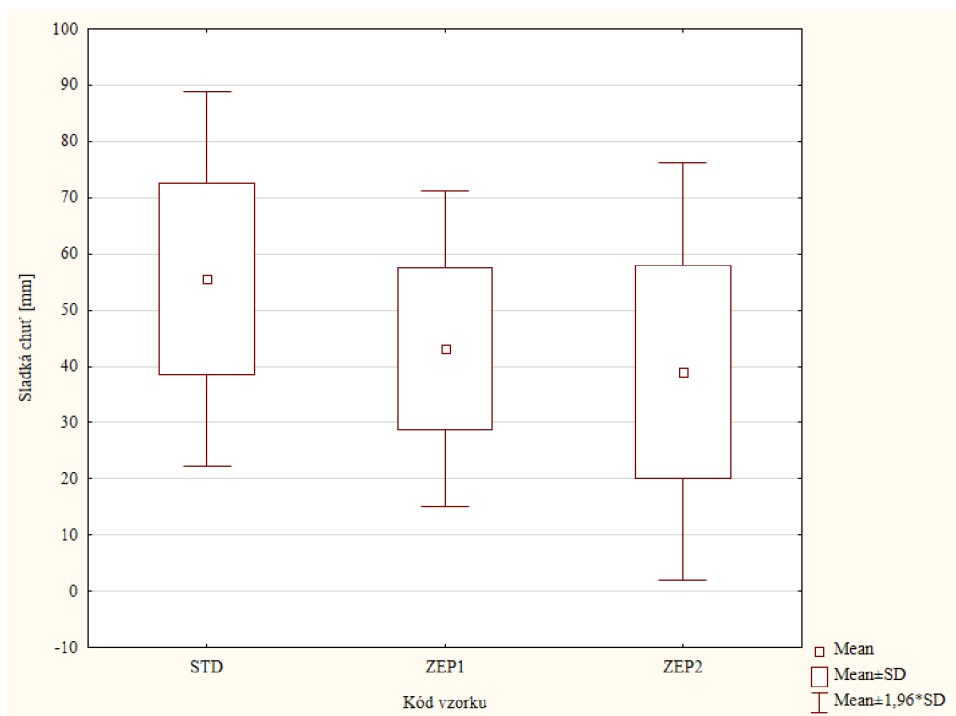
Stejně jako u meduňkových cukroviněk se příjemnost chuti snižovala se zvyšujícím se množstvím zázvorového prášku ve vzorku a intenzita naopak významně vzrůstala.

Sladká chuť byla opět výrazně potlačena zázvorovou chutí. Kyselá chuť byla hodnocena obdobně, odchylky mohou být způsobeny menší zkušeností hodnotitelů (o tom svědčí i velký rozptyl hodnot), obecně byly všechny tři vzorky hodnoceny jako středně kyselé. Bylinná chuť měla opět podle očekávání zvyšující se trend s rostoucí koncentrací prášku. Standardní vzorek byl hodnotiteli posouzen jako mírně zázvorový.

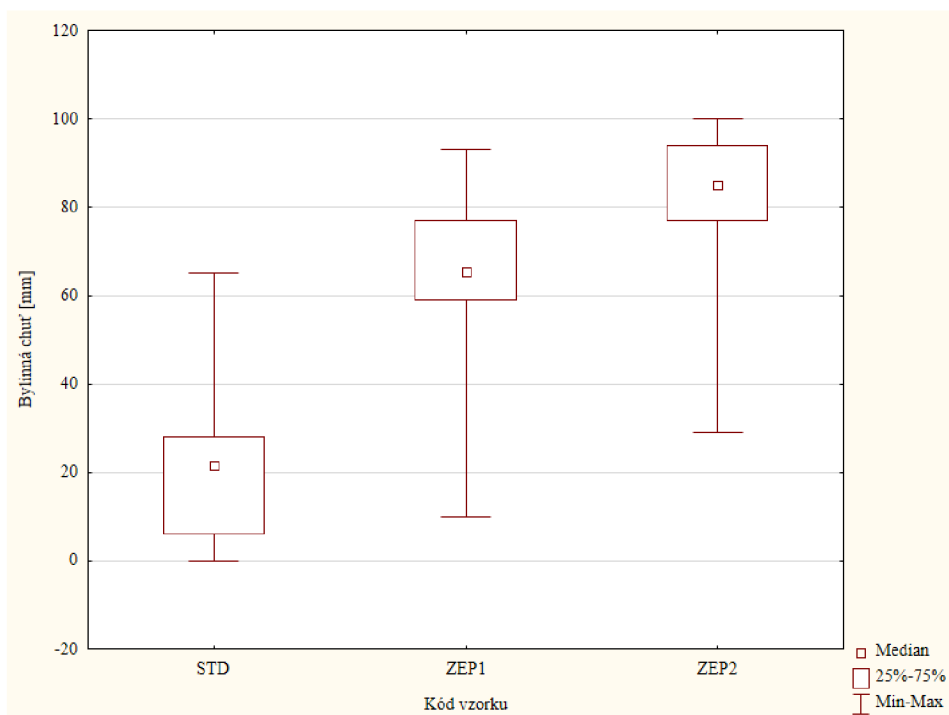
Podrobnější statistické zpracování ukázalo, že vzorky se mezi sebou lišily ve sladké chuti, kde  $p = 0,00252$  (Obr. 25). Byl proto použit Tukeyho test, který rozdělil vzorek ZEP2 a ZEP1 do jedné skupiny a vzorek STD do druhé. Další atributy, ve kterých se vzorky lišily, jsou intenzita chuti (Obr. 24) a bylinná chuť (Obr. 26), kde byla  $p$ -hodnota rovna nule. Pomocí vícenásobného srovnání bylo zjištěno, že vzorky si nebyly vůbec podobné z hlediska intenzity chuti, ale u bylinné chuti si byly podobné vzorky ZEP1 a ZEP2 s  $p$ -hodnotou  $p = 0,05312$ . Naopak si byly vzorky podobné v příjemnosti ( $p = 0,5852$ ) a kyselé chuti ( $p = 0,9819$ ) (viz Tab. 15).



Obr. 24 Vliv množství přidaného zázvorového prášku na intenzitě chuti (zleva – bez prášku, 1 %, 2 % prášku)

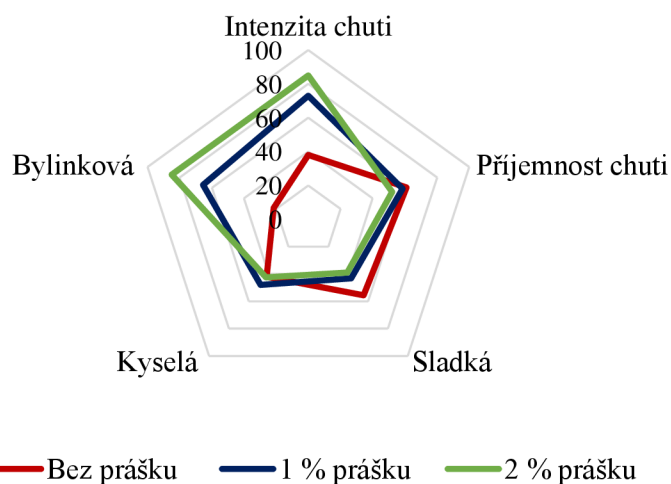


Obr. 25 Vliv množství přidaného zázvorového prášku na vnímání sladké chuti (zleva – bez prášku, 1 %, 2 % prášku)



Obr. 26 Vliv množství přidaného zázvorového prášku na vnímání bylinné chuti (zleva – bez prášku, 1 %, 2 % prášku)

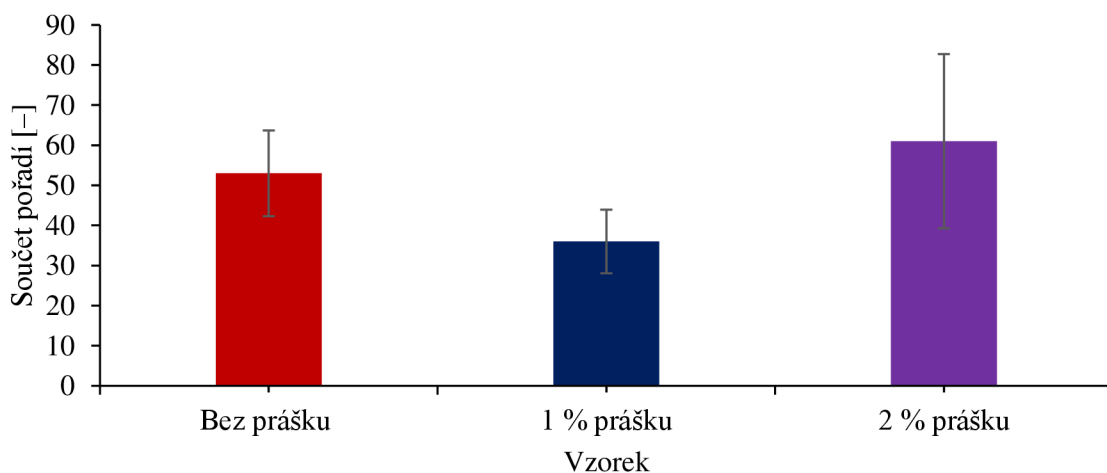
Stejně jako u meduňkových cukrovinek je na Obr. 27 graficky zobrazena odlišnost vzorku STD od ZEP1 a ZEP2.



Obr. 27 Vliv množství přidaného zázvorového prášku z hlediska všech parametrů

Pro poslední sensorickou analýzu byl vybrán vzorek ZEP1 podle pořadového testu, který je znázorněn na Obr. 28. Relativně podobné hodnocení měly vzorky STD a ZEP2, které byly spíše voleny jako méně chutné než vzorek ZEP1.





Obr. 28 Vliv množství přidaného zázvorového prášku na přijatelnosti vzorku (nejvíce → nejméně přijatelný vzorek)

#### 4.4 Senzorické srovnání vyrobených želé cukrovinek s komerčními

Ve třetím experimentu byly vyrobené želé cukrovinky (vybrané v přechozích kapitolách) srovnány s komerčními cukrovinkami obdobného typu/příchutě. Hodnotitelům byly předloženy vyrobené optimalizované vzorky, které obsahovaly 15 % extraktu a 1 % prášku příslušné byliny. Ke srovnání byly podány komerční výrobky stejné chuti, v případě zázvoru dva různé vzorky typu „želé“ s přídavkem zázvoru, v případě meduňky vzorek kandytové cukrovinky (typ „želé“ s touto příchutí nebyl na trhu nalezen) s přídavkem sušené meduňky a meduňkové silice.

Posuzovatelé hodnotili opět především chuť vzorků, a to intenzitu a příjemnost chuti, jednotlivé deskriptory chuti – sladká, kyselá, bylinná a jiná, a na závěr výběr nejlepšího/nejpříjemnějšího vzorku pomocí pořadové a párové porovnávací zkoušky. Součástí bylo i krátké slovní popsání chuti cukrovinek.

U zázvorových cukrovinek byla navíc hodnocena konzistence (příliš měkká → příliš tuhá). U meduňkových nemělo hodnocení konzistence vzhledem ke kandytovému charakteru komerční cukrovinky smysl. Použitý dotazník je v příloze 3.

##### 4.4.1 Senzorické srovnání meduňkových cukrovinek

Hodnotitelům byl předložen optimalizovaný meduňkový vzorek (OPT-M) a komerční vzorek stejné chuti (K-M). Ze statistického zpracování byla zjištěna nenormální distribuce u intenzity, kyselá a bylinná chuti, kde byla data zobrazena ve formě mediánu ± interkvartilový rozptyl, zbytek dat jako průměr ± směrodatná odchylka.

Tab. 16 Senzorické hodnocení chuti meduňkových cukrovinek

Kód*	Příjemnost [mm]	Intenzita [mm]	Sladká [mm]	Kyselá [mm]	Bylinná [mm]
OPT-M	63 ± 11 a	71 ± 23 a	44 ± 21 a	52 ± 22 a	66 ± 14 a
K-M	72 ± 24 a	59 ± 25 a	79 ± 14 b	6 ± 25 b	60 ± 49 a

\* Kódování vzorků viz Tab. 10, vyhodnocení ANOVY – podobné vzorky jsou popsány stejným písmenem

Z Tab. 16 lze pozorovat, že příjemnost byla vyšší u vzorku komerčního, ale intenzita u vzorku vyrobeného. Z hlediska jednotlivých atributů komerční vzorek byl více sladký, výrazně méně kyselý a bylinný. Bylinná chuť však byla hodnocena podobně jako u vyrobeného vzorku. Dle složení obsahoval komerční vzorek menší množství prášku (0,2 %) než vyrobený vzorek (1 %). Množství extraktu nelze posoudit vzhledem k tomu, že v komerčním výrobku je silice (0,1 %).

V dotazníku byl také zahrnut deskriptor „jiný,“ který ale většina hodnotitelů nepoužila, a proto nebyl zahrnut do statistického zpracování. Vzorek modelový byl u tohoto deskriptoru hodnocen pouze dvakrát, kde byl popsán jako natrpklý a medový. Vzorek komerční byl hodnocen čtyřikrát, z toho dvakrát byla chuť popsána jako umělá, dále pikantní, citrónová a medová.

V Tab. 17 jsou slovní hodnocení posuzovatelů (n = 25) ohledně chuti cukrovinek. Vzorek modelový byl často popsán jako nakyslý, bylinkový s příjemnou svěží chutí. Vzorek komerční hodnotitelé často hodnotili jako sladký.

Tab. 17 Slovní hodnocení chuti meduňkových cukrovinek

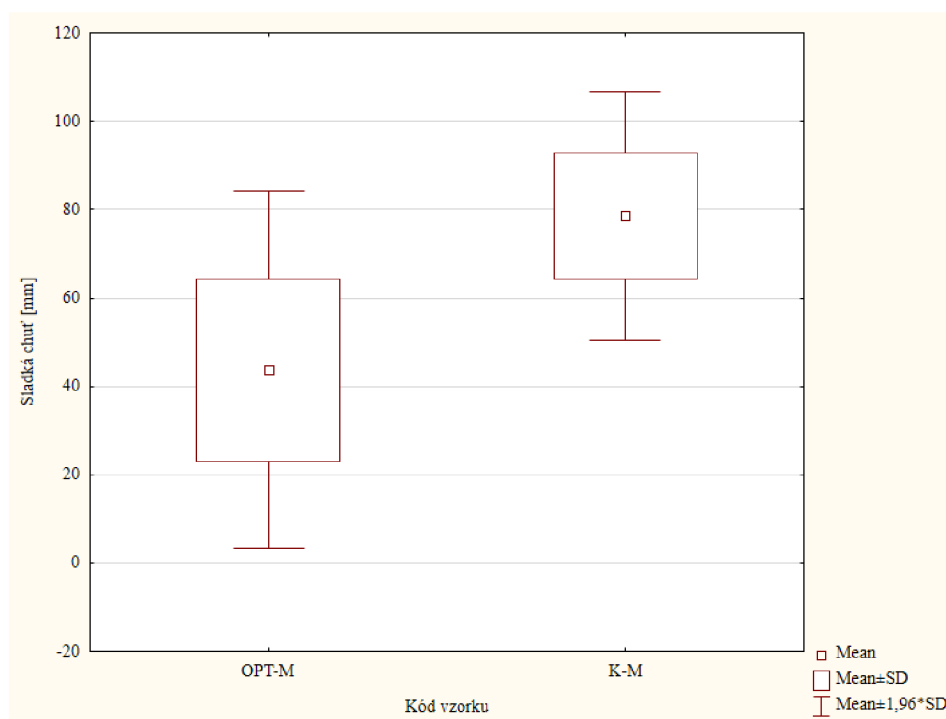
n	Vyroběný	Komerční
1	velmi chutné, příjemně nakyslé, méně sladké	hlavně sladké
2	rozpoznatelná meduňka, lehce citrusové	tlumená bylinná chuť, převážně sladké, na konci hořké
3	je cítit meduňka, trochu nakyslé	výrazná, příjemná až neutrální
4	bylinková, mírně kyselá, trochu jako bylinný čaj	výrazně bylinková, sladká, mírně štiplavá
5	sladká, jemně hořká/trpká	sladká, jemně štiplavá chuť
6	nakyslá, málo sladká, příjemná	sladká
7	kyselá, sladká, bylinková	sladká, bylinková
8	příjemná, ne příliš sladká, zároveň výrazná chuť meduňky	příjemná, výraznější, velmi bylinková
9	nejprve kyselá, potom bylinková	nejprve nevýrazná, poté sladká a bylinková, lehce ostrá
10	hořkosladká, kyselá, bylinná	sladká, bez bylinek
11	osvěžující, citrón, med	více bylinná chuť, příjemně mírná štiplavost
12	sladká, lehce bylinková	sladká, méně větrová, příjemná
13	bylinná, citrónová	sladká, nepříjemná
14	svěží, citrónová	sladká, bylinková
15	bylinková, mírně sladká	velmi sladká, citrónová
16	bylinková, kyselá	příliš sladká
17	kyselá, bylinková	sladká, nahořklá
18	sladká, bylinková, mírně chladivá	velmi sladká
19	bylinná, sladkokyselá	sladká, bylinná
20	příjemně sladká	moc sladká
21	příjemná, nostalgická	příliš sladká
22	příjemná chuť, sladkokyselá, citrónová	příliš sladká, medová

Tab. 17 Slovní hodnocení chuti meduňkových cukrovinek – pokračování

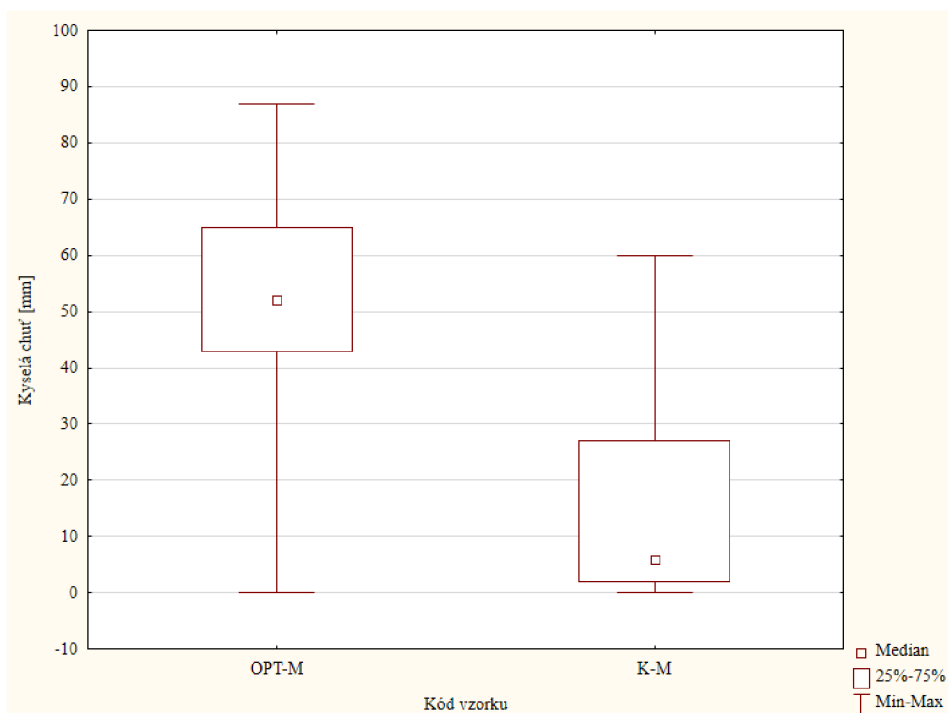
n	Vyrobený	Komerční
23	příjemně kyselá chuť	sladká, přebíjí vše ostatní
24	sladkokyselý, svěží	příliš sladká, medová chuť, trochu hořká
25	moc kyselé	příjemně sladké

Byla provedena podrobnější statistická analýza, která ukázala odlišnost vzorků mezi sebou. Z hlediska příjemnosti, intenzity a bylinné chuti se vzorky mezi sebou nelišily (Tab. 16), kde příjemnost chuti –  $p = 0,0860$ ; intenzita chuti –  $p = 0,4666$  a bylinná chuť –  $p = 0,8613$ . Ve sladké a kyselé chuti byl mezi vzorky významný rozdíl, jelikož p-hodnota byla rovna nule. Bylo tedy provedeno navíc srovnání jednotlivých vzorků mezi sebou z hlediska těchto deskriptorů, kde vzorky byly rozděleny na dvě odlišné skupiny.

V následujících Obr. 29-30 je zobrazeno grafické znázornění sladké a kyselé chuti.

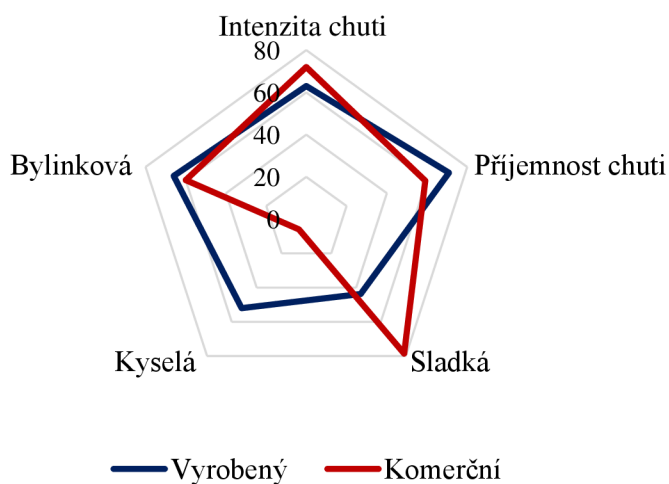


Obr. 29 Srovnání meduňkových cukrovinek v závislosti na vnímání sladké chuti (zleva – vyrobený, komerční vzorek)



Obr. 30 Srovnání meduňkových cukrovinek v závislosti na vnímání kyselé chuti (zleva – vyrobený, komerční vzorek)

Na Obr. 31 lze pozorovat vyváženější vlastnosti vzorku OPT-M na rozdíl od K-M, který dle hodnotitelů nebyl téměř vůbec kyselý a příliš sladký.



Obr. 31 Srovnání meduňkových cukrovinek z hlediska všech parametrů

Z párové porovnávací zkoušky (Tab. 18) lze pozorovat převahu volby vyrobeného vzorku.

Statisticky významný výsledek při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  pro 25 hodnotitelů je nejméně 18 preferenčních hlasů pro daný vzorek podle platné normy ČSN EN ISO 5495 (560032) [64]. V případě předložených vzorků tedy hodnotitelé preferovali vzorek OPT-M. Důvodem mohla být často zmiňovaná nadměrná sladkost komerčního vzorku (viz Tab. 17).

Tab. 18 Párová porovnávací zkouška chuti meduňkových cukrovinek

	Počet preferenčních hlasů
Vyrobený	20
Komerční	5

#### 4.4.2 Senzorické srovnání zázvorových cukrovinek

V této části sensorické analýzy byly hodnotitelům předloženy tři vzorky cukrovinek, vyrobený vzorek a dva komerční. Jak již bylo zmíněno, zde byla navíc hodnocena konzistence. Hodnoty příjemnosti, kyselosti a bylinné chuti byly zpracovány jako medián  $\pm$  interkvartilový rozptyl z důvodu nenormální distribuce dat.

Tab. 19 Sensorické hodnocení chuti zázvorových cukrovinek

Kód*	Příjemnost [mm]	Intenzita [mm]	Sladká [mm]	Kyselá [mm]	Bylinná [mm]	Konzistence [mm]
OPT-Z	66 $\pm$ 24 a	57 $\pm$ 22 a	60 $\pm$ 20 a	25 $\pm$ 27 a	71 $\pm$ 27 a	51 $\pm$ 19 a
K-Z1	59 $\pm$ 36 a	64 $\pm$ 18 a, b	41 $\pm$ 22 b	45 $\pm$ 29 b	67 $\pm$ 29 a	30 $\pm$ 13 b
K-Z2	55 $\pm$ 43 a	72 $\pm$ 22 b	41 $\pm$ 23 b	8 $\pm$ 19 a	89 $\pm$ 26 b	83 $\pm$ 12 c

\* Kódování vzorků viz Tab. 10, vyhodnocení ANOVY – podobné vzorky jsou popsány stejným písmenem

Nejvyšší příjemnost chuti byla u vzorku vyrobeného (viz Tab. 19) a nejmenší u komerčního K-Z2. Intenzita chuti byla naopak u vyrobeného vzorku nejnižší.

Nejsladší byl dle hodnotitelů vzorek vyrobený, přičemž komerční vzorky byly hodnoceny velmi podobně. Z hlediska kyselosti byl nejkyselejší komerční vzorek K-Z1, naopak K-Z2 byl velmi málo kyselý, vyrobený vzorek byl kyselý středně.

Bylinná chuť rostla podle množství zázvoru ve vzorku, kde vzorek K-Z1 obsahoval 0,9 % zázvorového prášku, modelový vzorek 15 % extraktu a 1 % prášku a K-Z2 10,5 % zázvoru. Konzistence byla nejtuzší u vzorku K-Z2 a nejvíce měkký byl K-Z1. Konzistence modelového vzorku byla ohodnocena jako středně tuhá, což lze považovat za optimální variantu.

Stejně jako u meduňkových vzorků bylo u deskriptoru chuti „jiná“ příliš málo hodnocení, tudíž je pouze slovně shrnuto. Vzorek vyrobený byl hodnocen čtyřikrát, kde respondenti vzorek popisovali jako štiplavý a pálivý. Vzorek K-Z1 byl ohodnocen sedmkrát, kde byl popsán jako hořký, štiplavý, pálivý a poté jeden hodnotitel cítil pachů blíže nespecifikovanou. Vzorek K-Z2 byl popsán jako zázvor, štiplavý, medový a pálivý. Často popsaná pálivost u komerčního vzorku K-Z2 byla pravděpodobně způsobena vysokou koncentrací zázvoru.

Součástí bylo i krátké popsání chuti cukrovinek (viz Tab. 20), kde n = hodnotitel. U vyrobeného vzorku se často opakoval slovní popis – sladká, pálivá, zázvorová. Komerční vzorek K-Z1 byl často popisován jako štiplavý, pálivý a zázvorový. Vzorek K-Z2 byl popisován jako pálivý, štiplavý, také „pouze chuť zázvoru“ nebo překvapivě „bez chuti.“

Tab. 20 Slovní hodnocení chuti zázvorových cukrovinek

n	Vyrobený	Komerční 1	Komerční 2
1	sladké, příjemná chuť zázvoru	sladké, nahořklé	pouze chuť zázvoru
2	více tlumená, sladká	zázvorová, lehce štiplavá	chuť zázvoru není téměř cítit
3	po krátké chvíli se cítí příchut'	příjemná	neutrální chuť a intenzita

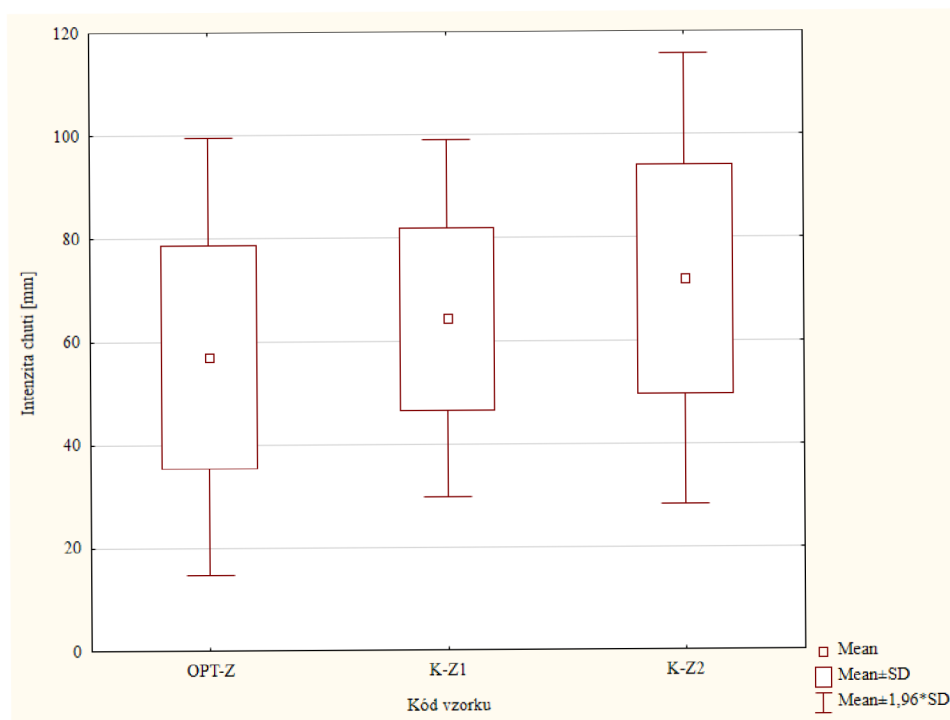
Tab. 20 Slovní hodnocení chuti zázvorových cukrovinek – pokračování

n	Vyrobený	Komerční 1	Komerční 2
4	zázvorová, medová, štiplavá, nasládlá	výrazně zázvorová, štiplavá	zázvorová, mírně štiplavá, sladká
5	výrazná chuť zázvoru	štiplavý zázvor, méně sladké	velmi silná chuť zázvoru až nepříjemná
6	sladká, pálivá	kyselá, lehce pálivá	pálivá, akorát sladká
7	sladká, zázvor, pálivá	sladká, zázvor	sladká, zázvor
8	výborná zázvorová chuť, jemně pálivá, sladká	příjemná zázvorová chuť, zároveň sladká	jemně pálivá
9	hořkosladká, následně pálivá, stále sladká	kyselá, poté ostrá, výrazná chuť zázvoru	zázvorová od začátku, dost sladká, pálivá
10	sladká, méně výrazná	pálivá, kyselá, sladká	sladká, hodně zázvorová, výrazná, až moc pálivá
11	mírně štiplavá, sladší	silná zázvorová štiplavost, kratší trvání	velmi intenzivní, silná zázvorová chuť
12	sladká, mírně ostrá	sladká, mírně ostrá	ostrá, štiplavá
13	sladká	sladko kyselá	nepříjemná
14	sladká, na konci pálivá	citrónová, pálivá	zázvorová
15	silná příjemná chuť zázvoru	příjemná chuť	nepříjemné
16	kyselá, zázvorová	zázvorová	příliš sladká
17	sladká	zázvorová	moc štiplavá
18	sladká, mírně pálivá	pálivá	kyselá, zázvorová
19	sladká, zázvorová, příjemná	pálivá, bylinná, příjemná	výrazná zázvorová chuť, sladká
20	příjemná	příjemná zázvorová	bez chuti
21	kyselá	zázvorová	hořké
22	nijak výrazná	příjemně sladká, štiplavá, zázvorová	hodně zázvorová
23	zázvorová, citrónová, medová	zázvorová, méně sladká	příliš sladká, zvláštní pachut'
24	kyselá, mírně zázvorová, příjemná	příjemně zázvorová	sladká, nijaká
25	zázvorová	silně zázvorová	neutrální chuť

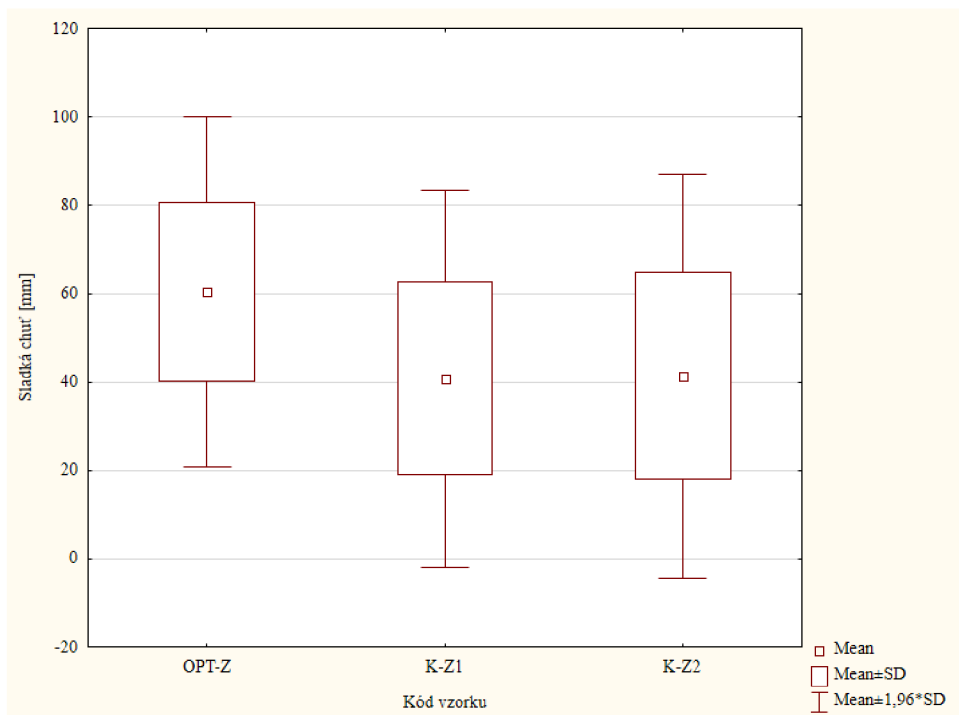
Ze statistického zhodnocení byly porovnány vzorky mezi sebou, kde podle konzistence ( $p = 0,0000$ ), intenzity ( $p = 0,0462$ ), sladké ( $p = 0,0025$ ), kyselé ( $p = 0,0001$ ) a bylinné ( $p = 0,0104$ ) chuti se zcela od sebe lišily. Pomocí podrobnějšího testu byly vzorky rozděleny na tři skupiny podle konzistence, podle sladkosti na dvě skupiny, kde v první byly komerční a ve druhé vyrobený vzorek. Test rozdělil vzorky podle intenzity chuti také na dvě skupiny, s jiným rozdělením, kde v první skupině byly vyrobený a komerční K-Z1 a ve druhé komerční vzorky. V kyselé chuti byly spolu podobné pouze vyrobený a komerční K-Z2 vzorky a u bylinné chuti byly vyrobený a komerční K-Z1 vzorky identické s p-hodnotou  $p = 1,000$ .

Jediná vlastnost, kde se vzorky od sebe nelišily, byla příjemnost chuti, kde byla p-hodnota vyšší než hladina významnosti 0,05 –  $p = 0,3775$ .

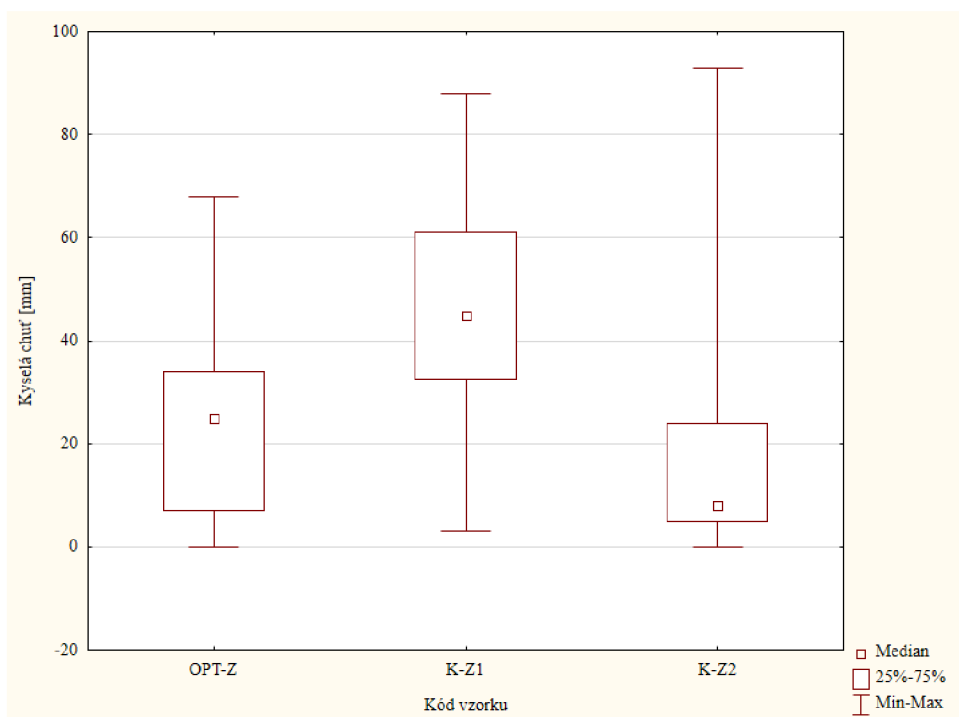
V následujících grafech (Obr. 32-36) je znázorněno statistické vyhodnocení senzoričné analýzy z hlediska vlastností, kde nebyla stanovena podobnost na základě ANOVY.



Obr. 32 Srovnání zázvorových cukrovinek v závislosti na intenzitě chuti (zleva – vyrobené, komerční 1, komerční 2)

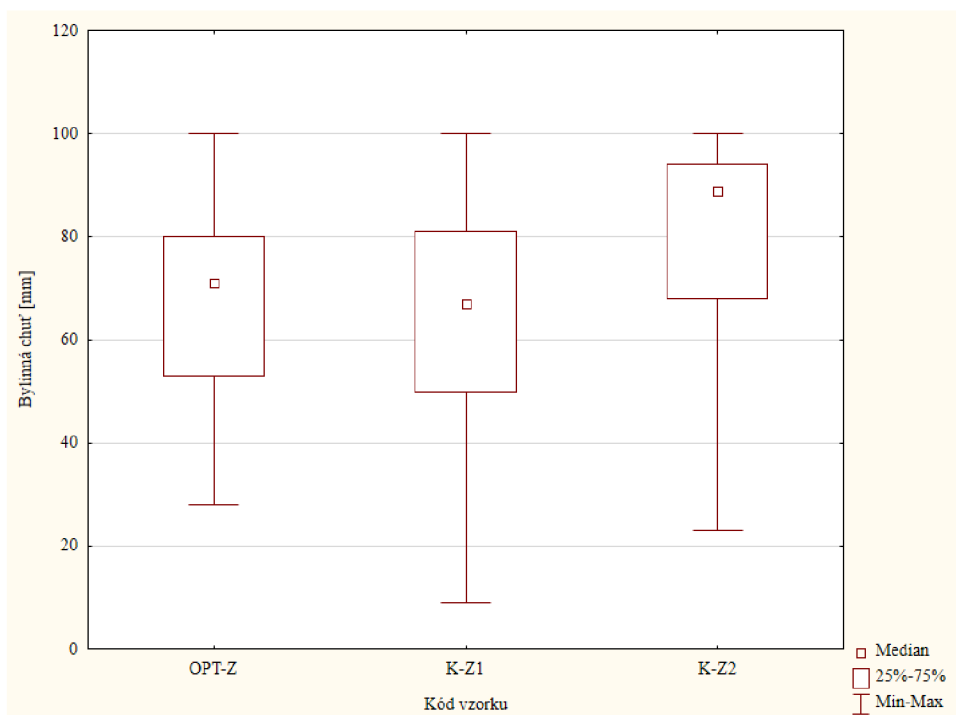


Obr. 33 Srovnání zázvorových cukrovinek v závislosti na vnímání sladké chuti (zleva – vyrobené, komerční 1, komerční 2)

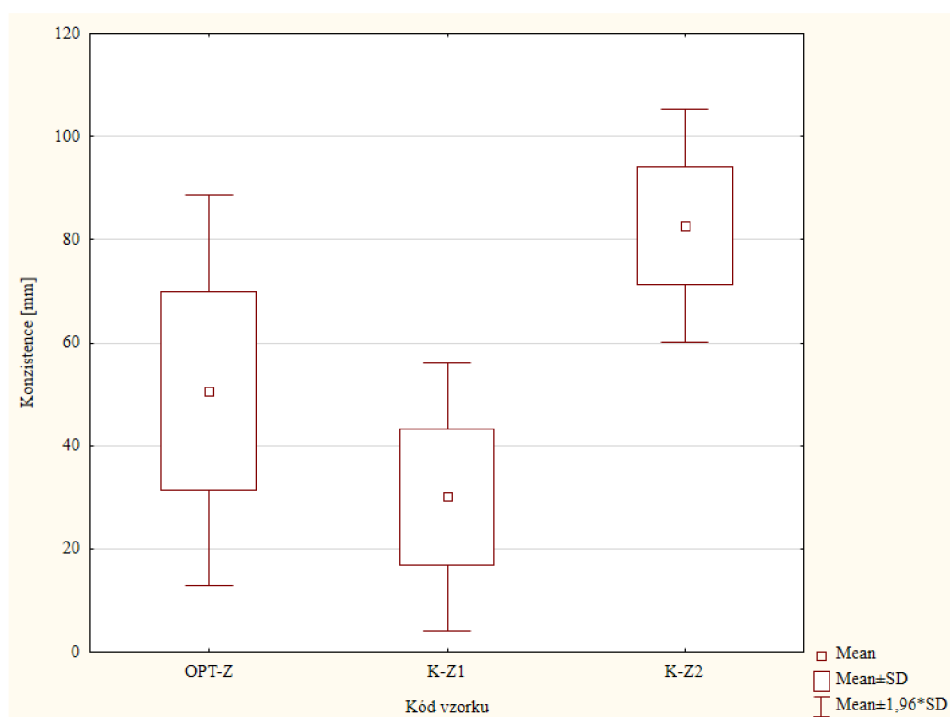


Obr. 34 Srovnání zázvorových cukrovinek v závislosti na vnímání kyselé chuti (zleva – vyrobené, komerční 1, komerční 2)



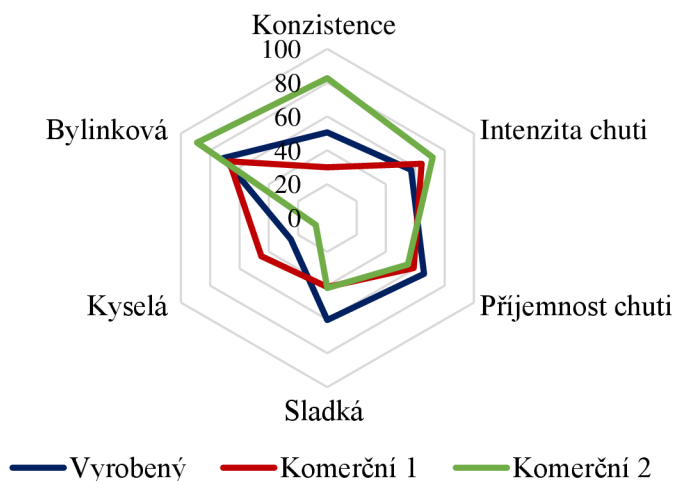


Obr. 35 Srovnání zázvorových cukrovinek v závislosti na vnímání bylinné chuti (zleva – vyrobené, komerční 1, komerční 2)



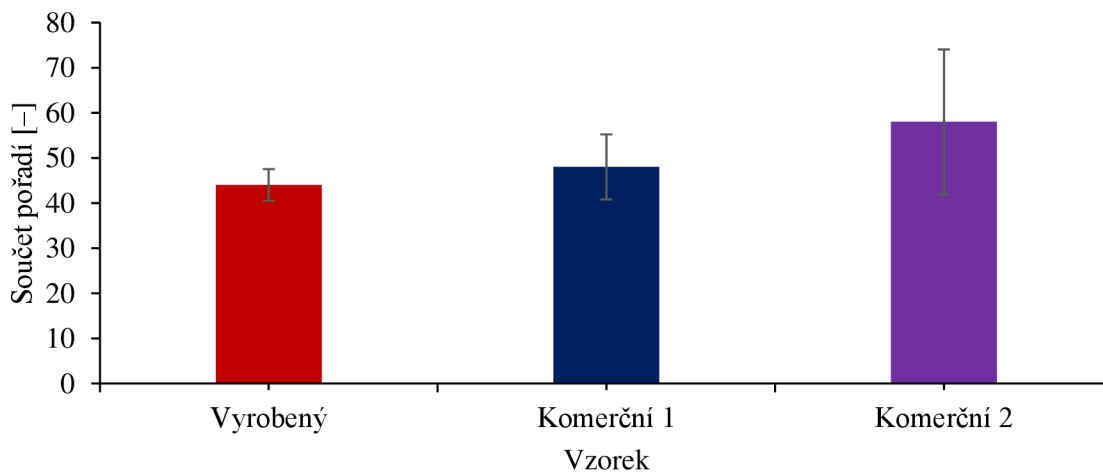
Obr. 36 Srovnání zázvorových cukrovinek v závislosti na konzistenci (zleva – vyrobené, komerční 1, komerční 2)

Na Obr. 37 lze pozorovat všechny vlastnosti jednotlivých cukrovinek, které byly předloženy na senzorní analýze. Podle hodnotitelů není kyselá chuť příliš cítit ani u jednoho ze vzorků.



Obr. 37 Srovnání zázvorových cukrovinek z hlediska všech parametrů

Na základě pořadového testu (Obr. 38), byl hodnotiteli zvolen vyrobený vzorek jako nejchutnější, přičemž komerční vzorek K-Z2 jako nejméně chutný. Hodnocení vzorku K-Z2 bylo pravděpodobně způsobeno vysokou koncentrací zázvoru, která, jak popisovali, byla příliš pálivá a překryla tak ostatní možné chutě jako kyselá nebo sladká. Zároveň zde také hraje velmi významnou roli fakt, zda hodnotitelé měli v oblibě chuť zázvoru, která díky své výrazné chuti nemusí být až tak oblíbenou příchutí.



Obr. 38 Srovnání zázvorových cukrovinek podle přijatelnosti (nejvíce → nejméně přijatelný vzorek)

#### 4.5 Charakterizace bylinných extraktů

Bylinné extrakty použité pro výrobu modelových cukrovinek byly charakterizovány z hlediska aromaticky aktivních a fenolických látek a antioxidační aktivity. Tyto analýzy sloužily především pro optimalizaci podmínek přípravy zázvorového extraktu, meduňkový extrakt byl, jak již bylo uvedeno, převzat z předchozí práce [62] a proměřen pouze jako informace o obsahu těchto látek.

#### 4.5.1 Identifikace těkavých látek v extraktech

Těkavé látky ve vzorcích byly stanoveny metodou HS-SPME-GC-MS a identifikovány srovnáním hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou. Všechny identifikované látky jsou souhrnně uvedeny v Tab. 21.

Každé měření bylo provedeno třikrát ( $n = 3$ ), v tabulce je aritmetický průměr retenčních časů ( $R_T$ ), RSD retenčního času látek se pohybovalo pod 1 %. Dále byl vypočten retenční index (RI) a porovnán s hodnotami uvedenými v literatuře – Babushok a kol. [65] ( $RI_{lit}$ ), přičemž červeně zvýrazněné hodnoty nebyly v rozmezí 90% intervalu spolehlivosti RI pro potvrzení sloučeniny a modře zvýrazněné hodnoty toto rozmezí překračovaly, ale byly v jeho těsné blízkosti. Při identifikaci sloučenin byl zároveň kontrolován faktor shody ( $R_{match}$ ), v úvahu byly brány sloučeniny s hodnotou nad 700.

Jednotlivé extrakty jsou uvedeny zkratkou, kde zázvorové extrakty jsou označeny zkratkou ZO s číslem označující dobu macerace – 60 minut ( $ZO_{60}$ ), 90 minut ( $ZO_{90}$ ) a 24 hodin ( $ZO_{24}$ ). Meduňkový extrakt je označen zkratkou MOL. Obsah sloučenin je uveden v relativním procentuálním zastoupení ve vzorku  $\pm$  směrodatná odchylka. Těkavé alergeny byly zvýrazněny tučným písmem.

V Tab. 21 je dále uveden FEMA (Flavours and Extracts Manufacturers Associations) profil [40], který charakterizuje vůni/aroma jednotlivých sloučenin.

Studie zabývající se stanovením těkavých látek v extraktech z meduňky lékařské jsou uvedeny v kap. 2.2.1.1. Identifikovali v těchto extraktech neral, geranial, citronellal [28], dále také  $\beta$ -karyofylen, thymol, karvakrol a geranylacetát [29].

V připraveném meduňkovém extraktu (MOL) bylo identifikováno celkem 19 různých těkavých látek, z toho 3 aldehydy, 7 esterů a 9 terpenů. Z čehož byly 3 alergeny (viz kap. 2.3) – citral (Z a E izomer), citronellol a geraniol. V největším množství byl zastoupen citronellal (30,2 %), (E)-citral (26,6 %) a (Z)-citral (13,4 %), dalšími látkami byly geraniol (5,7 %), geranylacetát (4,7 %), citronellol (3,7 %), ethyllaurát (3,4 %) a (E)-karyofylen (3,1 %).

Obsahem těkavých látek v zázvoru se zabývaly různé studie (viz kap. 2.2.2.1), kde byl identifikován kamfen, zingiberen, 1,8-cineol,  $\beta$ -felandren,  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -kurkumen [34], [35].

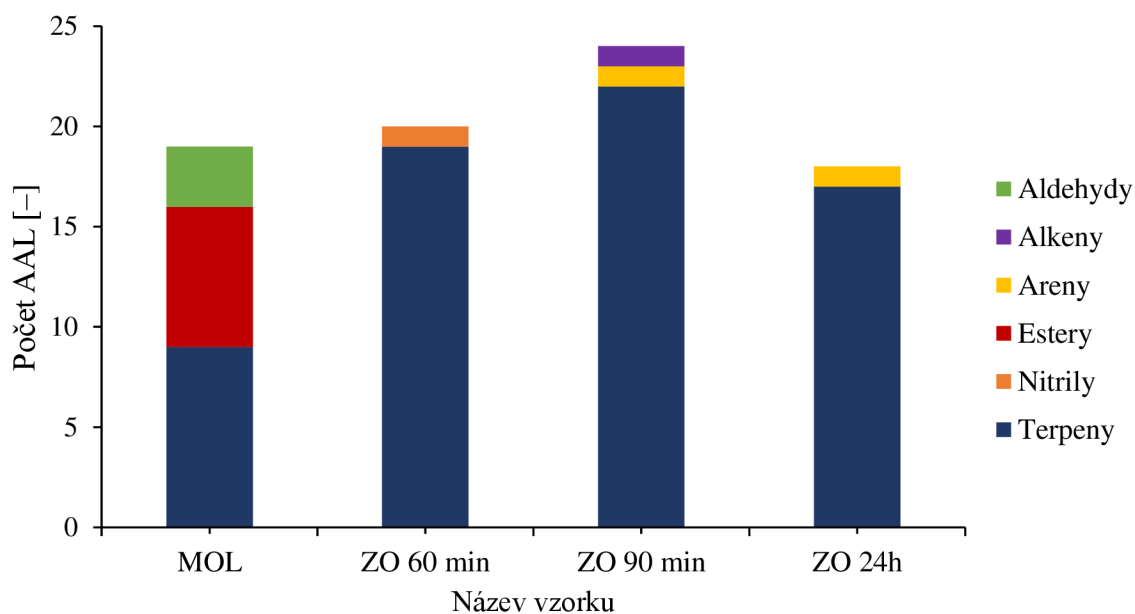
V zázvorovém extraktu macerovaném po dobu 60 minut za zvýšené teploty ( $ZO_{60}$  minut), bylo identifikováno 20 těkavých látek, z toho 1 nitril a 19 terpenů, zároveň obsahoval pouze jeden alergen a to limonen. Nejvíce bylo v extraktu  $\alpha$ -zingiberenu (21,2 %) a  $\alpha$ -kopaenu (16,5 %), dále pak  $\beta$ -seskvifelandren (9,4 %),  $\beta$ -felandren (izomery – 8,7 %; 3,1 %),  $\alpha$ -kurkumen (6,3 %),  $\beta$ -bisabolen (5,9 %),  $\beta$ -himachalen (5,8 %), kamfen (4,8 %) a  $\beta$ -pinen (3,0 %).

Zázvorový extrakt macerovaný po dobu 90 minut ( $ZO_{90}$  minut) za zvýšené teploty obsahoval 24 těkavých látek, kde byl 1 alken, 1 aren a 22 terpenů. Stejně jako předchozí vzorek obsahoval pouze jeden alergen (limonen). Největší obsah byl zastoupen látkami –  $\alpha$ -zingiberen (29,0 %),  $\beta$ -bisabolen (19,7 %),  $\beta$ -seskvifelandren (10,9 %),  $\beta$ -felandren (8,3 %),  $\alpha$ -kurkumen (7,3 %),  $\beta$ -himachalen (6,2 %) a  $\alpha$ -farnesen (3,6 %).

Zázvorový extrakt, ve kterém bylo identifikováno nejmenší množství těkavých látek (18), byl macerován po dobu 24 hodin za laboratorní teploty ( $ZO_{24h}$ ). Obsahoval 1 aren a 17 terpenů, z čehož byly 2 alergeny (Z a E isomer citralu, limonen). V největším množství

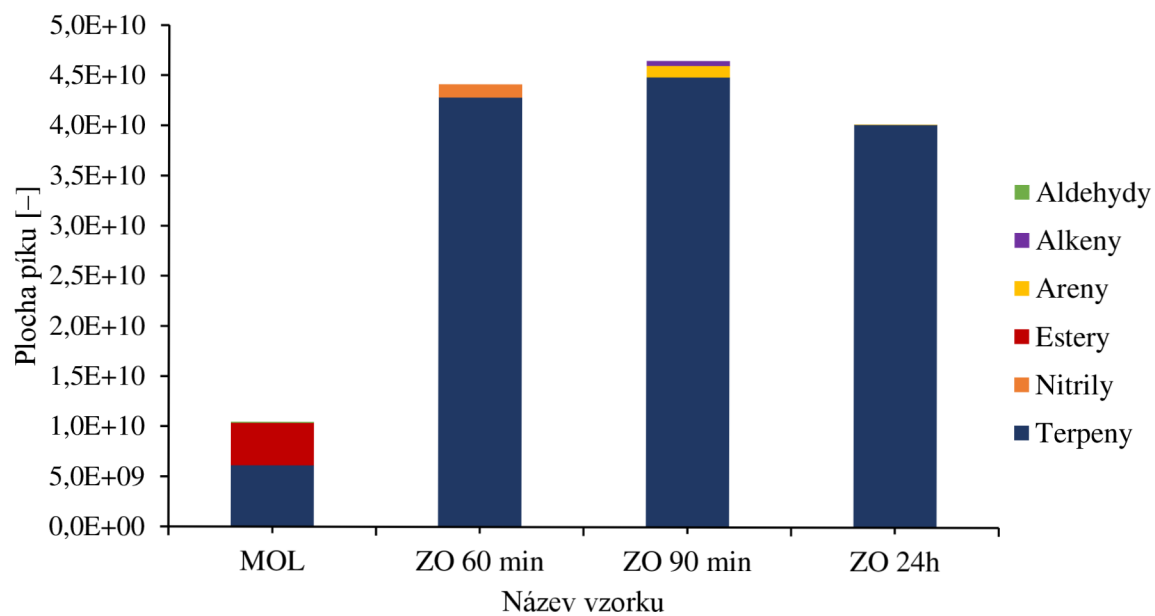
byl identifikován  $\alpha$ -zingiberen (23,6 %),  $\beta$ -seskvifelandren (18,9 %) a  $\beta$ -farnesen (18,7 %), dále pak  $\alpha$ -farnesen (13,2 %),  $\beta$ -himachalen (8,6 %),  $\alpha$ -kurkumen (3,5 %) a  $\beta$ -elemen (3,2 %).

Na Obr. 39 lze pozorovat porovnání počtu těkavých látek v jednotlivých extraktech. Lze zde pozorovat jednoznačně převažující počet terpenů nad jinými skupinami. Největší rozdíl je patrný mezi ZO 90 minut, kde bylo identifikováno 24 těkavých látek a ZO 24h, kde jich bylo 18. V obou vzorcích byl přítomen aren, přičemž v ZO 90 minut byl navíc alken. Na rozdíl od toho ZO 60 minut neobsahoval aren ani alken, ale nitril. V meduňkovém extraktu bylo identifikováno menší množství látek než v zázvorových a byl složen z terpenů, esterů a aldehydů.



Obr. 39 Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek v bylinných extraktech

Graf na Obr. 40 porovnává těkavé látky z hlediska jejich obsahu v extraktu. Ve všech extraktech dominují terpeny, přičemž u MOL jsou navíc ve větším množství obsaženy i estery.



Obr. 40 Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek v extraktech

Tab. 21 Identifikované těkavé látky v bylinných extraktech [40], [65]

Název	$\sigma R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	Relativní obsah [%]				Skupina	FEMA
				ZO <sub>60</sub>	ZO <sub>90</sub>	ZO <sub>24</sub>	MOL		
$\alpha$ -Pinen	5,79	1027	1008-1039	2,9 ± 3,6	1,0 ± 1,7	0,0 ± 0,0	–	Terpen	cedrové dřevo, borovice, ostrý
Kampfen	6,76	1073	1043-1086	4,8 ± 5,7	2,5 ± 4,6	–	–	Terpen	kafr, naftalinová kulička, olej, teplý
$\beta$ -Pinen	7,64	1112	1085-1130	0,4 ± 0,5	–	–	–	Terpen	borovice, leštidlo, dřevo
$\beta$ -Pinen	9,19	1172	1085-1130	3,0 ± 0,7	1,0 ± 0,2	–	–	Terpen	borovice, leštidlo, dřevo
<b>Limonen</b>	10,12	1208	1178-1219	2,7 ± 4,8	1,4 ± 2,3	0,2 ± 0,0	–	Terpen	citrus, máta
(2-Isopropenyl-1-methylcyklobutyl)acetonitril	10,28	1214	–	0,2 ± 0,1	–	–	–	Nitril	–
$\beta$ -Felandren	10,42	1219	1188-1233	8,7 ± 6,2	8,3 ± 7,3	–	–	Terpen	–
$\beta$ -Felandren	10,54	1224	1188-1233	3,1 ± 4,9	1,2 ± 3,4	–	–	Terpen	–
(E)-2-Hexenal	10,85	1235	1196-1238	–	–	–	0,2 ± 0,1	Aldehyd	–
Nonanal	15,47	1409	1370-1414	–	–	–	0,4 ± 0,4	Aldehyd	tuk, květinový, zelený, citrón
Ethylkaprylát	16,46	1448	1416-1458	–	–	–	0,5 ± 2,5	Ester	meruňka, brandy, tuk, květinový, ananas
$\alpha$ -Kubeben	17,06	1471	1438-1480	–	0,2 ± 0,3	–	–	Terpen	–
Cyklosativen	17,73	1497	1445-1549	1,6 ± 0,7	1,1 ± 3,3	0,2 ± 0,2	–	Terpen	–
Citronellal	17,74	1497	1457-1495	–	–	–	30,2 ± 1,1	Terpen	citrus, tuk, list
$\alpha$ -Kopaen	17,97	1507	1462-1522	16,5 ± 14,0	1,9 ± 0,1	0,4 ± 0,5	–	Terpen	–

Tab. 21 Identifikované těkavé látky v bylinných extraktech – pokračování [40], [65]

Název	$\sigma R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	Relativní obsah [%]				Skupina	FEMA
				ZO <sub>60</sub>	ZO <sub>90</sub>	ZO <sub>24</sub>	MOL		
Ethylpelargonát	19,03	1550	–	–	–	–	0,8 ± 2,0	Ester	květinový
Seskvithujen	19,56	1571	–	–	0,8 ± 1,7	–	–	Terpen	–
(S)-Methylcitronellát	19,78	1580	–	–	–	–	2,8 ± 9,4	Terpen	květinový
Neoisopulegol	20,05	1591	–	–	–	–	1,7 ± 1,9	Terpen	máta, chladivý
$\alpha$ -Bergamoten	20,30	1601	1534-1580	–	0,4 ± 0,8	1,4 ± 2,7	–	Terpen	–
$\beta$ -Elemen	20,45	1608	1565-1608	–	0,6 ± 0,5	2,4 ± 3,2	–	Terpen	–
(E)-Karyofylen	20,64	1616	1569-1632	0,9 ± 0,7	–	0,7 ± 0,6	3,1 ± 7,3	Terpen	smažený, koření, dřevo
1,1,3a-Trimethyl-7-methylendekahydro-1H-cyklopropa[a]naftalen	21,05	1633	–	–	0,3 ± 0,1	–	–	Aren	–
Ethylkaprinát	21,49	1652	1616-1660	–	–	–	1,1 ± 1,6	Ester	brandy, hroznové víno, hruška
Menthol	21,65	1658	1599-1651	–	–	–	1,0 ± 9,7	Terpen	máta, chladivý
Alloaromadendren	21,82	1666	1624-1668	–	0,60 ± 0,52	2,4 ± 0,7	–	Terpen	–
Fenylacetát	21,97	1672	1784-1851	–	–	–	0,3 ± 3,5	Ester	–
$\beta$ -(Z)-Farnesen	22,20	1682	1627-1668	2,7 ± 4,1	0,28 ± 0,68	6,4 ± 18,7	–	Terpen	vařená zelenina, květinový, dřevo
$\beta$ -Patchoulen	22,53	1696	–	–	0,37 ± 0,26	–	–	Terpen	–
<b>(Z)-Citral</b>	22,72	1704	1641-1706	–	–	1,2 ± 1,0	13,4 ± 7,1	Terpen	–
$\beta$ -Himachalen	22,85	1710	–	5,8 ± 9,8	6,23 ± 9,22	13,5 ± 8,6	–	Terpen	–
Methylgeranoát	22,95	1714	1678-1701	–	–	–	0,4 ± 4,5	Terpen	–
Isoleden	23,36	1732	–	1,2 ± 0,7	–	–	–	Terpen	–

Tab. 21 Identifikované těkavé látky v bylinných extraktech – pokračování [40], [65]

Název	$\sigma R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	Relativní obsah [%]				Skupina	FEMA
				ZO <sub>60</sub>	ZO <sub>90</sub>	ZO <sub>24</sub>	MOL		
$\alpha$ -Zingiberen	23,58	1742	1696-1743	21,2 ± 11,6	29,0 ± 26,9	26,6 ± 23,6	–	Terpen	–
$\beta$ -Bisabolen	23,68	1747	1698-1748	5,9 ± 1,3	19,7 ± 18,9	8,0 ± 2,5	–	Terpen	květinový
$\delta$ -selinen	23,78	1751	–	–	1,3 ± 2,1	–	–	Terpen	–
<b>(E)-Citral</b>	23,90	1756	1680-1750	–	–	0,9 ± 1,7	26,6 ± 11,3	Terpen	citrón
$\beta$ -Kurkumin	23,98	1760	1711-1756	0,4 ± 0,3	–	–	–	Terpen	–
$\alpha$ -Farnesen	24,13	1767	1714-1763	2,1 ± 2,6	3,6 ± 5,7	12,0 ± 13,2	–	Terpen	vařená zelenina, květinový, dřevo
Geranylacetát	24,31	1775	1728-1772	–	–	–	4,7 ± 7,2	Terpen	levandule, růže
<b>Citronellol</b>	24,50	1783	1734-1789	–	–	–	3,7 ± 6,5	Terpen	citrus, zelený, růže
$\beta$ -Seskvifelandren	24,69	1792	1748-1783	9,4 ± 16,3	10,9 ± 3,1	22,2 ± 18,9	–	Terpen	vařená zelenina, květinový, dřevo
$\alpha$ -Kurkumin	24,77	1795	–	6,3 ± 11,6	7,3 ± 6,2	1,1 ± 3,5	0,4 ± 4,2	Terpen	–
$\alpha$ -Muurolen	25,22	1816	1686-1753	–	–	0,4 ± 0,5	–	Terpen	–
Ethyllaurát	26,10	1857	1820-1866	–	–	–	3,4 ± 11,8	Ester	květinový, ovoce, list
<b>Geraniol</b>	26,31	1867	1795-1865	–	–	–	5,7 ± 8,1	Terpen	pelargonie, citrónová slupka, maracuja, broskev, růže
3,6-Diethyl-3,6-dimethyl-1,4-cyklohexadien	27,98	1947	–	–	0,2 ± 0,1	–	–	Alken	–



#### 4.5.2 Stanovení celkového obsahu fenolů v bylinných extraktech

Celkový obsah fenolů byl stanoven pomocí Folin-Ciocalteuovy spektrofotometrické metody (kap. 2.5.4). U každého vzorku byla provedena tři měření ( $n = 3$ ), která byla následně zprůměrována.

V Tab. 22 jsou shrnuty výsledky měření, kde lze pozorovat, že meduňkový extrakt obsahoval výrazně vyšší obsah fenolů než extrakty zázvorové. Ze zázvorových to je pak extrakt macerovaný po dobu 90 minut. Podle literatury se množství fenolických látek v meduňce pohybuje v rozmezí  $0,13\text{--}269 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  [30]. Obsah fenolů v meduňkovém extraktu tedy spadá do tohoto rozmezí.

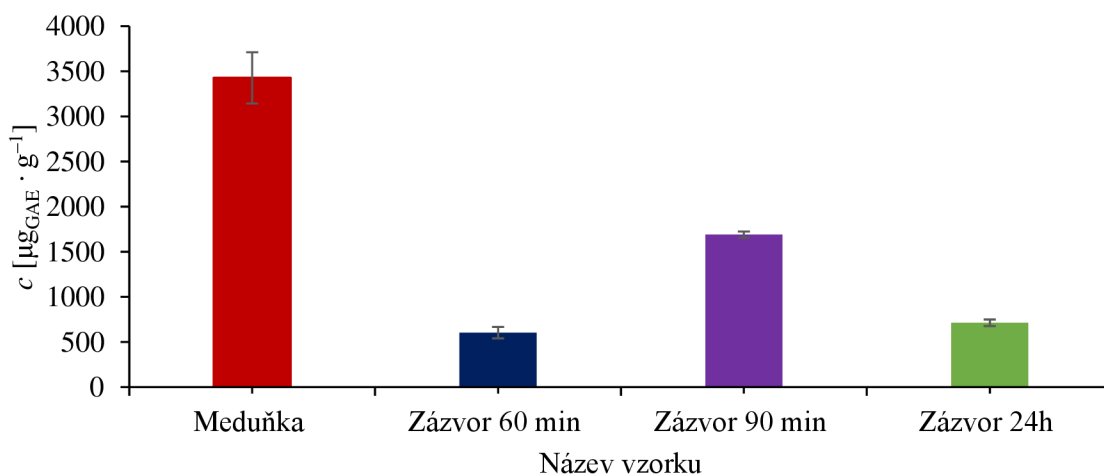
Stanovením fenolických látek v zázvoru v závislosti na metodě sušení se zabývali Ghafoor a kol. [36], kde stanovili  $931,94 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . V další studii byla stanovena koncentrace  $60,34 \pm 0,43 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  [66]. Množství extrahovaného fenolu ve vyrobených zázvorových extraktech bylo o dost nižší než ve studiích, což může být způsobeno lepšími metodami na extrakci, kde v první studii byl zázvor extrahován ve směsi methanolu a vody a vložen na ultrazvuk. Ve druhé studii byl zázvor macerován ve směsi chloroformu a methanolu při laboratorní teplotě po dobu 72 hodin.

Pro výrobu zázvorového extraktu byl z hlediska fenolických látek „nejlepší“ macerát po dobu 90 minut.

Graf na Obr. 41 ukazuje srovnání množství fenolických látek v jednotlivých extraktech.

Tab. 22 Obsah fenolických látek v bylinných extraktech

Extrakt	$\sigma A_{765} [-]$	$c [\mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}]$
Meduňka	1,033	$3427,8 \pm 283,8$
Zázvor 60 minut	0,364	$603,4 \pm 63,5$
Zázvor 90 minut	1,018	$1689,6 \pm 34,9$
Zázvor 24 hodin	0,430	$712,9 \pm 36,7$



Obr. 41 Srovnání obsahu fenolických látek v bylinných extraktech

### 4.5.3 Stanovení antioxidační aktivity bylinných extraktů

Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí spektrofotometrické metody TEAC za použití radikálového činidla ABTS (kap. 2.5.1.1). Každý vzorek byl proměřen dvakrát ( $n = 2$ ) a hodnoty byly zprůměrovány.

V Tab. 23 jsou uvedeny naměřené zprůměrované hodnoty absorbance, procenta zhášení ( $X$ ) a koncentrace vztážená na gram byliny. Nejvyšší obsah antioxidantů byl opět v meduňkovém extraktu, který zhášel radikál na 90,5 %. Ze zázvoru je to opět macerát po dobu 90 minut, jehož antioxidační aktivita zhášela na 53,6 %.

Antioxidační aktivitou v meduňkových ethanolických extraktech v závislosti na metodě sušení extraktu (sušení mrazem a horkým vzduchem) se zabývali Lin a kol. [67], kde stanovili pro  $0,48 \text{ mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$  (sušení horkým vzduchem) a  $0,62 \text{ mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$  (sušení mrazem). Stanovením antioxidační aktivity v meduňkovém esenciálním oleji se zabývali také a Becheret a kol. [68], kde stanovili  $46,17 \pm 4,70$  % zhášení ABTS.

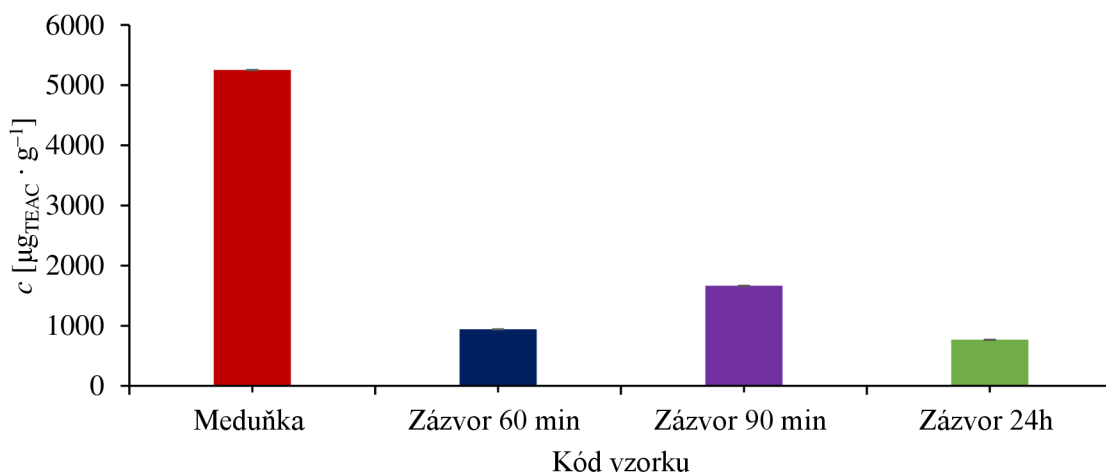
Množstvím antioxidantů v závislosti na metodě sušení v zázvorovém esenciálním oleji se zabývali Osae a kol. [69], kteří stanovili ve svých vzorcích  $48,07$ - $81,95 \text{ mg}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$  (v přepočtu  $12,03$ - $20,51 \text{ mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ ). Ve studii a Ali kol. [66] naměřili schopnost zhášení radikálu (ABTS) antioxidanty přítomnými v zázvoru  $99,06 \pm 1,00$  % v petroletherovém extraktu a  $90,02 \pm 0,08$  % v extraktu směsi chloroformu a methanolu.

Připravené extrakty obsahovaly nižší množství antioxidantů než zmíněné studie. Hodnoty však nelze přímo srovnávat, jelikož stanovení ovlivňuje řada faktorů, jako je např. způsob získání extraktu, období sběru rostliny, podmínky metody a další.

Na Obr. 42 lze pozorovat grafické srovnání připravených extraktů.

Tab. 23 Antioxidační aktivita bylinných extraktů

Extrakt	$\sigma A_{734}$ [-]	$X$ [%]	$c$ [ $\text{mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ ]
Meduňka	1,033	90,5	$20,97 \pm 0,04 \cdot 10^{-3}$
Zázvor 60 minut	0,364	25,9	$3,75 \pm 0,07 \cdot 10^{-3}$
Zázvor 90 minut	1,018	53,6	$6,64 \pm 0,29 \cdot 10^{-3}$
Zázvor 24 hodin	0,430	19,2	$3,06 \pm 0,05 \cdot 10^{-3}$



Obr. 42 Srovnání antioxidační aktivity v bylinných extraktech

#### 4.6 Charakterizace vyrobených želé cukrovinek a komerčních výrobků

Vyrobené (optimalizovaná varianta) a komerční cukrovinky byly charakterizovány stejně jako extrakty z hlediska obsahu fenolických a aromaticky aktivních látek a antioxidační aktivity. Jednotlivé příchutě byly poté srovnány mezi sebou a se standardem (vzorek bez příchutě).

Součástí bylo také ověření validačních parametrů HS-SPME-GC-MS metody zaměřené na těžké alergeny.

##### 4.6.1 Ověření validačních parametrů HS-SPME-GC-MS metody

Následující validační parametry – opakovatelnost, reprodukovatelnost, lineární rozsah, limit detekce a stanovitelnosti a retenční index – byly ověřeny u 21 těžkých alergenů. Dva alergeny (benzylcinnamát a lyral) nebylo možné detekovat a metoda se zatím jeví jako nevhodná pro jejich stanovení (bude dále testováno). V rámci ověření byly identifikovány i dva izomery citralu a čtyři izomery farnesolu.

V Tab. 24 jsou hodnoty pro lineární rozsah a jeho koeficient determinace, průměr retenčního času ( $R_T$ ) tvořeného z hodnot opakovatelnosti a reprodukovatelnosti, vypočítané retenční indexy (RI) a retenční indexy z literatury [65] pro porovnání ( $RI_{lit}$ ), přičemž červeně zvýrazněné hodnoty se neshodují a modře zvýrazněné hodnoty jsou v těsné blízkosti. Dále jsou zde limity detekce ( $LOD$ ) a stanovitelnosti ( $LOQ$ ) a teplota varu ( $T_v$ ), která byla vyhledána v databázích [70-72].

Lineární rozsah jednotlivých alergenů je různý v závislosti na jejich chemické struktuře. Koeficienty determinace u všech sloučenin byly vyhodnoceny nad hodnotu 0,98, čímž potvrzují linearitu rozsahu, ve kterém byly stanoveny.

Hodnoty opakovatelnosti a reprodukovatelnosti jsou v Tab. 25. V tabulce jsou průměry retenčních časů z deseti opakování, dále pak průměry ploch píku ( $A$ ) a relativní směrodatné odchylky (RSD) uváděné v procentech pro retenční čas i plochu píku. Pro meze přijatelnosti RSD bylo vypočítáno  $RSD_H$  podle Horwitzovy rovnice, viz vzorec (5), kde hodnoty menší nebo rovné  $RSD_H$  jsou brány jako přijatelné. Červeně zvýrazněné hodnoty nesplňují limit  $RSD_H$ .

Hodnoty retenčních časů mají velmi nízké RSD, většina je pod hodnotou 0,05 %, jediný limonen má hodnotu vyšší než 0,50 % v opakovatelnost i reprodukovatelnosti. RSD ploch píků

se pohybuje v průměru okolo 6,44 % u opakovatelnosti a 7,30 % u reprodukovatelnosti. Množství látek, které nesplňují  $RSD_H$ , je pět v případě opakovatelnosti a devět u reprodukovatelnosti. Pro některé alergeny tedy nemusí být metoda plně vhodná.

Ukázka chromatogramu standardů těkavých alergenů viz příloha 4.

Tab. 24 Validované parametry metody HS-SPME-GC-MS

Název	Lineární rozsah [ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]	R <sup>2</sup>	$\sigma R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	LOD [ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]	Tv [°C]
Limonen	0,005-80	0,9819	10,18	1210	1178–1219	0,052	0,158	176,0
Linalool	0,5-300	0,9813	19,27	1559	1507–1564	0,392	1,187	197,5
Methyl 2-oktynoát	0,05-400	0,9829	21,91	16670	–	0,064	0,193	218,5
(Z)-Citral	5-300	0,9873	22,61	1699	1641–1706	13,385	40,560	228,0
(E)-Citral	5-300	0,9851	23,75	1750	1680–1750	11,819	35,816	228,0
Citronellol	5-600	0,9891	24,38	1778	1734–1789	1,461	4,427	224,3
Geraniol	10-500	0,9903	26,17	1860	1795–1865	20,041	60,729	227,5
$\alpha$ -Isomethyl jonon	0,5-400	0,9811	26,39	1871	1798–1892	3,338	10,115	276,0
Benzylalkohol	5-500	0,9916	26,96	1897	1821–1905	25,572	77,490	205,3
Hydroxycitronellal	100-1000	0,9902	28,20	1958	–	19,408	58,811	241,0
Cinnamal	10-1000	0,9853	30,43	2045	2015–2044	32,612	98,824	246,0
Eugenol	10-400	0,9924	32,75	2128	2100–2198	23,033	69,797	253,2
$\alpha$ -Amylcinnamal	5-1000	0,9854	34,39	2195	–	20,133	61,008	286,0
Farnesol	200-1000	0,9882	34,53	2201	2286–2355	247,664	750,497	290,0
Anýzalkohol	100-1000	0,9875	34,79	2211	2191–2290	11,789	35,723	259,1
Cinnamylalkohol	80-1000	0,9810	34,88	2215	–	5,452	16,521	250,0
Farnesol	200-1000	0,9937	35,22	2229	2219–2342	40,694	123,315	290,0
Farnesol	200-1000	0,9957	35,44	2238	2340–2370	69,473	210,524	290,0
Farnesol	200-1000	0,9931	35,92	2258	2278–2387	16,227	49,173	290,0
Isoeugenol	60-1000	0,9861	36,03	2262	–	31,149	94,391	266,0
$\alpha$ -Hexylcinnamal	10-1000	0,9930	36,15	2267	–	21,164	64,134	174,0-175,0
Kumarin	60-1000	0,9926	38,02	2344	–	1,218	3,691	301,7

Tab. 24 Validované parametry metody HS-SPME-GC-MS – pokračování

Název	Lineární rozsah [ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]	R <sup>2</sup>	$\sigma R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	LOD [ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]	Tv [°C]
$\alpha$ -Amylcinnamylalkohol	40-900	0,9916	39,38	2400	–	57,150	173,180	141,0-143,0
Benzylbenzoát	60-1000	0,9980	41,79	2498	2565–2655	148,612	450,340	323,5
Benzylsalicylát	200-1000	0,9822	46,71	2700	2760–2810	170,166	515,654	227,0

$R_T$  – retenční čas, RI – retenční index, LOD – limit detekce, LOQ – limit kvantifikace

Tab. 25 Validované parametry (opakovatelnost a reprodukovatelnost) metody HS-SPME-GC-MS

Název	Opakovatelnost				Reprodukovatelnost				RSD <sub>H</sub> [%]
	$\sigma R_T$ [min]	RSD $R_T$ [%]	$\sigma A$ [min]	RSD A [%]	$\sigma R_T$ [min]	RSD $R_T$ [%]	$\sigma A$ [min]	RSD A [%]	
Limonen	10,17	0,78	$1,37 \cdot 10^9$	7,47	10,19	0,65	$1,19 \cdot 10^9$	4,78	35,17
Linalool	19,27	0,02	$2,92 \cdot 10^8$	1,16	19,27	0,02	$2,82 \cdot 10^8$	2,24	17,63
Methyl 2-oktynoát	21,90	0,03	$6,22 \cdot 10^8$	3,30	21,91	0,04	$6,01 \cdot 10^8$	5,25	24,90
(Z)-Citral	22,60	0,01	$1,79 \cdot 10^8$	4,04	22,61	0,03	$1,70 \cdot 10^8$	3,03	12,48
(E)-Citral	23,75	0,02	$2,02 \cdot 10^8$	3,64	23,75	0,03	$1,98 \cdot 10^8$	2,89	12,48
Citronellol	24,37	0,03	$2,14 \cdot 10^8$	7,16	24,38	0,03	$2,13 \cdot 10^8$	5,65	12,48
Geraniol	26,17	0,02	$1,44 \cdot 10^8$	9,76	26,17	0,02	$1,47 \cdot 10^8$	7,54	11,25
$\alpha$ -Isomethyl jonon	26,38	0,02	$4,92 \cdot 10^8$	3,69	26,39	0,03	$4,89 \cdot 10^8$	4,24	17,63
Benzylalkohol	26,96	0,02	$1,21 \cdot 10^8$	7,04	26,96	0,02	$1,19 \cdot 10^8$	6,34	12,48
Hydroxycitronellal	28,20	0,02	$3,10 \cdot 10^7$	5,01	28,20	0,01	$2,80 \cdot 10^7$	10,11	7,96
Cinnamal	30,42	0,02	$3,91 \cdot 10^8$	7,32	30,43	0,03	$3,78 \cdot 10^8$	5,48	11,25
Eugenol	32,75	0,01	$1,14 \cdot 10^8$	6,95	32,75	0,01	$1,17 \cdot 10^8$	9,41	11,25
$\alpha$ -Amylcinnamal	34,38	0,02	$2,48 \cdot 10^8$	8,18	34,39	0,02	$2,55 \cdot 10^8$	8,54	12,48
Farnesol	34,52	0,01	$3,60 \cdot 10^6$	7,18	34,53	0,01	$2,79 \cdot 10^6$	9,99	7,18

Tab. 25 Validované parametry metody HS-SPME-GC-MS – pokračování

Název	Opakovatelnost				Reprodukovatelnost				RSD <sub>H</sub> [%]
	$\bar{\sigma} R_T$ [min]	RSD $R_T$ [%]	$\bar{\sigma} A$ [min]	RSD $A$ [%]	$\bar{\sigma} R_T$ [min]	RSD $R_T$ [%]	$\bar{\sigma} A$ [min]	RSD $A$ [%]	
Anýzalkohol	34,79	0,00	$2,89 \cdot 10^7$	9,13	34,79	0,01	$2,81 \cdot 10^7$	11,65	7,96
Cinnamylalkohol	34,88	0,01	$5,57 \cdot 10^7$	9,04	34,88	0,01	$5,98 \cdot 10^7$	12,57	8,23
Farnesol	35,22	0,01	$1,28 \cdot 10^7$	4,06	35,22	0,01	$1,52 \cdot 10^7$	4,77	7,18
Farnesol	35,44	0,01	$1,18 \cdot 10^7$	1,37	35,44	0,01	$1,40 \cdot 10^7$	9,82	7,18
Farnesol	35,92	0,01	$1,24 \cdot 10^7$	7,59	35,92	0,01	$1,43 \cdot 10^7$	9,89	7,18
Isoeugenol	36,03	0,01	$4,21 \cdot 10^7$	11,71	36,03	0,01	$2,74 \cdot 10^7$	11,07	8,60
$\alpha$ -Hexylcinnamal	36,15	0,01	$7,59 \cdot 10^5$	8,75	36,15	0,01	$7,93 \cdot 10^5$	7,19	11,25
Kumarin	38,02	0,01	$4,85 \cdot 10^7$	8,75	38,02	0,01	$4,83 \cdot 10^7$	6,81	8,60
$\alpha$ -Amylcinnamylalkohol	39,37	0,01	$2,45 \cdot 10^7$	4,27	39,38	0,01	$2,55 \cdot 10^7$	6,37	9,14
Benzylbenzoát	41,79	0,02	$6,07 \cdot 10^7$	7,40	41,79	0,02	$5,70 \cdot 10^7$	9,31	8,60
Benzylsalicylát	46,70	0,03	$4,90 \cdot 10^7$	6,97	46,71	0,02	$5,13 \cdot 10^7$	7,48	7,18

$R_T$  – retenční čas, RSD – relativní směrodatná odchylka,  $A$  – plocha píku, RSD<sub>H</sub> – relativní směrodatná odchylka vypočítaná pomocí Horwitzovy rovnice

#### 4.6.2 Identifikace těkavých látek ve vzorcích cukrovinek

Stanovení těkavých látek ve vzorcích bylo provedeno pomocí metody HS-SPME-GC-MS, jejíž podmínky jsou uvedeny v kap. 3.3.1. Pro identifikaci látek byla srovnána hmotnostní spektra s dostupnými knihovny. Přítomné těkavé látky jsou uvedeny v Tab. 26 a Tab. 27.

Každý vzorek byl proměřen třikrát ( $n = 3$ ), retenční časy ( $R_T$ ) jsou uvedeny ve formě průměru, RSD retenčních časů sloučenin se pohybovala pod 1 %. Při vyhodnocování byl kontrolován faktor shodnosti ( $R_{\text{match}}$ ) v knihovně spekter, v úvahu byly brány sloučeniny s hodnotou nad 700, pro potvrzení identifikace sloučeniny. V návaznosti na retenční čas byl vypočten i retenční index (RI) a srovnán s dostupnou literaturou ( $RI_{\text{lit}}$ ) [65] pro úplné potvrzení identifikace sloučeniny, přičemž hodnoty neshodující se s rozmezím jsou označeny červeně a hodnoty v těsné blízkosti modře. Těkavé alergeny jsou zvýrazněny tučným písmem.

U jednotlivých sloučenin a vzorků je také uveden průměr procentuálního zastoupení ve vzorku ( $n = 3$ )  $\pm$  směrodatná odchylka. V tabulkách je zároveň i FEMA profil charakterizující jednotlivé sloučeniny z hlediska vůně/aroma.

Ukázky chromatogramů vzorků viz přílohy 5-9.

##### 4.6.2.1 Identifikované těkavé látky v meduňkových cukrovinkách

Studie zabývající se obsahem těkavých látek v meduňce jsou již zmíněny v kap. 2.2.1.1, kde byly identifikovány např. neral, geranial, citronellal, také  $\beta$ -karyofylen, thymol, karvakrol a geranylacetát [28], [29]. V Tab. 26 jsou uvedeny identifikované těkavé látky ve vzorcích (vyrobený – komerční – standard).

V připraveném meduňkovém želé bylo stanoveno 32 těkavých látek, z toho 3 aldehydy, 1 alken, 4 areny, 3 estery, 2 ketony, 1 kyselina a 18 terpenů. V největším množství se zde nacházel  $\alpha$ -kurkumin (23,9 %),  $\beta$ -seskvifelandren (17,6 %) a borneol (10,4 %). Ve větším množství nad 5 % se dále nacházel eukalyptol (7,6 %),  $\alpha$ -terpineol (6,5 %) a (E)-citral (6,5 %). Celkově byly ve vzorku identifikovány 4 alergeny (linalool, Z a E isomer citralu, citronellol, Z a E isomer geraniolu). V meduňkovém extraktu bylo identifikováno 19 sloučenin, vyšší počet těkavých látek může být způsoben přidáním meduňkového prášku a vodného extraktu v želé.

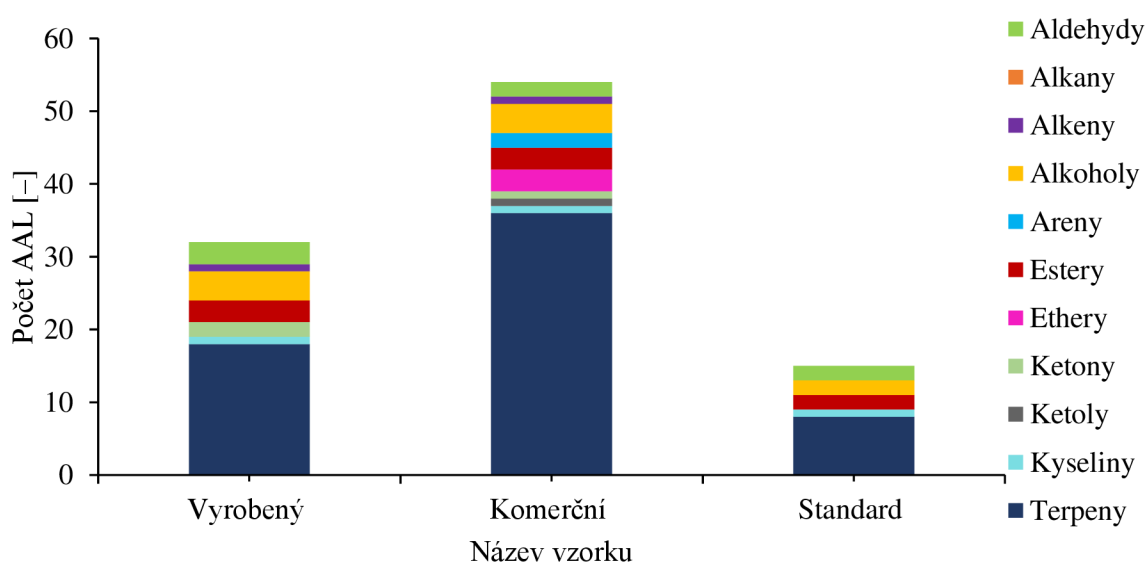
V komerční meduňkové cukrovince bylo identifikováno 54 těkavých látek, kde většinu tvořily terpeny (36), další látky spadaly do skupin alkoholy (4), estery (3), ethery (3), areny (2), keton (1), aldehyd (1), ketol (1) a kyselina (1). V případě procentuálního zastoupení jednotlivých látek se v největším množství ve vzorku vyskytoval (E)-geraniol (18,0 %) a geranylacetát (10,0 %). Ve vyšším množství nad 5 % se zde pak nacházel (Z,E)- $\alpha$ -farnesen (8,1 %), geranylbutyrát (7,6 %), citronellol (7,4 %), (E)-methylisoeugenol (7,2 %) a borneol (5,4 %). Ve vzorku bylo zároveň identifikováno 5 alergenů (limonen, linalool, Z a E isomer citralu, citronellol, Z a E isomer geraniolu).

Pro srovnání byl proměřen i standard bez přídavku extraktů a prášku, ve kterém bylo identifikováno 15 látek – 8 terpenů, aldehydy, alkoholy a estery po dvou sloučeninách a 1 kyselina. V největším množství se ve vzorku nacházel  $\alpha$ -terpineol (31,6 %), dále pak furfural (15,2 %),  $\gamma$ -kadinen (15,0 %) a (E)-citral (6,4 %). Standard obsahoval tři alergeny – linalool, Z a E isomer citralu, (Z)-geraniol.

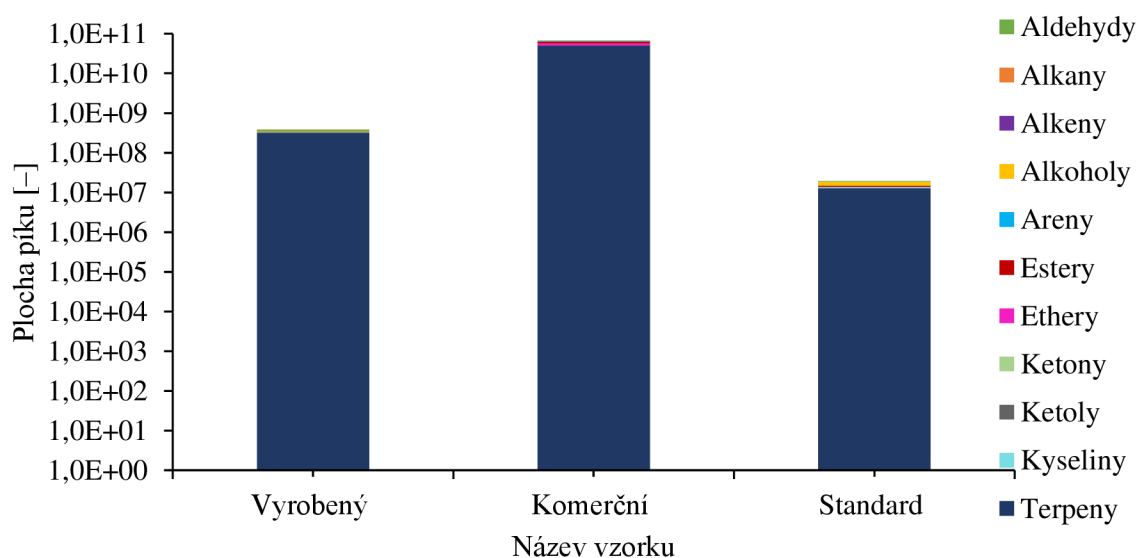
Na Obr. 43 lze pozorovat srovnání počtu jednotlivých skupin těkavých látek ve vzorcích. Je zde výrazný rozdíl mezi komerčním a vyrobeným vzorkem cukrovinky. Na dalším obrázku



(Obr. 44) je znázorněn obsah sloučenin z hlediska plochy píku. Je opět patrný rozdíl mezi komerčním a vyrobeným vzorkem. Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben lepšími metodami extrakce těkavých látek z meduňky u komerčního vzorku, kde i při nižším obsahu meduňky ve vzorku je koncentrace látek vyšší. Zároveň je v komerčním vzorku (viz Tab. 11) obsažen i med, který mohl výrazně obsah těkavých látek zvýšit. Další příčinou, která mohla způsobit nízký obsah těkavých látek ve vyrobeném vzorku, bylo použití byliny v období, které není pro její růst zcela ideální. Na druhou stranu standard obsahoval velmi malé množství těkavých látek.



Obr. 43 Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek v meduňkových cukrovinkách a standardu



Obr. 44 Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek v meduňkových cukrovinkách a standardu

Tab. 26 Identifikované těkavé látky v meduňkových cukrovinkách a standardu [40], [65]

Název	R <sub>T</sub> [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-M*	K-M*	STD*	Skupina	FEMA
Kamfen	6,70	1070	1043-1086	–	0,2 ± 1,1	–	Terpen	kafr, naftalinová kulička, olej, teplý
β-Pinen	9,33	1178	1085-1130	–	0,6 ± 1,6	–	Terpen	borovice, leštidlo, dřevo
<b>Limonen</b>	10,13	1209	1178-1219	–	0,5 ± 2,7	–	Terpen	citrus, máta
Eukalyptol	10,29	1215	1186-1231	7,6 ± 13,9	–	–	Terpen	kafr, chladivý, eukalyptol, máta
(E)-β-Ocimen	11,08	1244	1232-1267	–	0,3 ± 0,7	–	Terpen	květinový
(Z)-β-Ocimen	11,54	1261	1211-1251	–	0,3 ± 0,2	–	Terpen	–
2-Methyltetrahydro-3-furanon	12,10	1282	–	–	0,1 ± 1,3	–	Keton	ořechy
Terpinolen	12,39	1293	1261-1300	–	0,1 ± 0,4	–	Terpen	borovice
Oktanal	12,67	1303	1267-1312	0,2 ± 0,4	–	–	Aldehyd	citrusy, tuk, zelený, olej, štiplavý
Acetol	13,27	1326	–	–	0,3 ± 0,3	–	Ketol	máslo, byliny, slad, štiplavý
2-Heptanol	13,40	1331	1284-1335	0,5 ± 0,6	–	–	Alkohol	citrus, hlína, smažený, houby, olej
Sulcaton	13,97	1352	1317-1357	0,9 ± 1,3	–	–	Keton	citrus, houby, pepř, guma, jahoda
Nonanal	15,42	1407	1370-1414	0,3 ± 0,7	–	2,0 ± 1,1	Aldehyd	tuk, květinový, zelený, citrón
Ethylkaprylát	16,41	1445	1416-1458	0,4 ± 0,4	–	2,3 ± 3,1	Ester	meruňka, brandy, tuk, květinový, ananas
Kyselina octová	17,39	1483	1408-1479	0,3 ± 0,7	–	3,0 ± 7,6	Kyselina	kyselina, ovoce, štiplavý, kyselý, ocet
Furfural	17,47	1487	1432-1490	0,9 ± 0,2	1,2 ± 1,8	15,2 ± 16,4	Aldehyd	mandle, pečené brambory, chleba, spálenina, koření
Citronellal	17,62	1493	1457-1495	–	1,5 ± 1,2	–	Terpen	citrus, tuk, list
2-Ethyl-1-hexanol	17,83	1501	1452-1513	0,2 ± 0,3	–	3,5 ± 13,4	Alkohol	zelený, růže
Dekanal	18,14	1513	1471-1516	–	0,1 ± 0,2	–	Aldehyd	–
2-Nonanol	18,48	1527	1484-1538	0,3 ± 0,4	–	–	Alkohol	okurka
β-Bourbonen	18,53	1529	1496-1546	–	0,2 ± 0,2	–	Terpen	–

Tab. 26 Identifikované těkavé látky v meduňkových cukrovinkách a standardu – pokračování [40], [65]

Název	R <sub>T</sub> [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-M*	K-M*	STD*	Skupina	FEMA
Ethyl-3-hydroxybutyrát	18,64	1534	–	–	–	2,6 ± 1,3	Ester	marshmallow, pražený ořech
<b>Linalool</b>	19,28	1560	1507-1564	2,4 ± 2,5	0,6 ± 0,9	4,4 ± 4,9	Terpen	koriandr, květinový, levandule, citrón, růže
(Z)-2-Menthen-1-ol	19,68	1576	1557-1625	–	0,1 ± 0,1	–	Terpen	–
Neoisopulegol	19,77	1580	–	–	0,2 ± 0,0	–	Terpen	máta, chladivý
Isopulegol	19,93	1586	–	–	0,5 ± 0,9	–	Terpen	máta, chladivý
Isobornylacetát	20,13	1594	1551-1585	0,4 ± 1,4	–	–	Terpen	zelený
Bornylacetát	20,15	1595	1549-1597	–	0,8 ± 2,0	–	Ester	byliny, borovice, zelený, květinový
β-Element	20,37	1604	1565-1608	–	1,0 ± 2,9	–	Terpen	–
Methylkaprinát	20,44	1607	1581-1624	0,9 ± 3,3	–	–	Ester	–
2-Undekanon	20,50	1610	1579-1617	0,8 ± 0,0	–	–	Keton	svěžest, zelený, pomerančová slupka
(E)-Karyofylen	20,52	1610	1569-1632	–	1,4 ± 3,7	–	Terpen	smažený, koření, dřevo
3,7-Dimethyl-3,6-oktadienal	20,75	1620	–	0,8 ± 1,0	–	–	Alken	–
Terpinen-4-ol	20,90	1627	1564-1630	0,6 ± 0,0	0,7 ± 1,2	2,3 ± 2,6	Terpen	hlína, zatuchlý, muškátový oříšek, dřevo
Myrtenal	21,40	1648	1597-1648	0,4 ± 0,5	–	–	Terpen	máta, chladivý
Melonol	21,84	1667	–	–	0,3 ± 0,4	–	Alkohol	–
Citronellolacetát	22,00	1673	1633-1671	–	2,9 ± 6,3	–	Terpen	prach, květinový, voňavý, růže
1,5,9,9-Tetramethyl-1,4,7-cykloundekatrien	22,28	1685	–	–	0,2 ± 0,2	–	Alken	–
2-Furanmethanol	22,31	1686	1618-1688	–	0,3 ± 1,5	–	Alkohol	spálenina, karamel, vařený
<b>(Z)-Citral</b>	22,62	1699	1641-1706	3,4 ± 2,2	0,4 ± 0,9	3,1 ± 5,7	Terpen	citrón
γ-Kurkumin	22,69	1702	1682-1704	3,1 ± 6,2	–	–	Terpen	–
γ-Kadinen	22,70	1703	1735-1782	–	0,5 ± 0,3	15,0 ± 10,3	Terpen	–

Tab. 26 Identifikované těkavé látky v meduňkových cukrovinkách a standardu – pokračování [40], [65]

Název	R <sub>T</sub> [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-M*	K-M*	STD*	Skupina	FEMA
α-Terpineol	22,94	1714	1659-1724	6,5 ± 6,4	3,6 ± 5,2	31,6 ± 11,8	Terpen	anýz, svěžest, máta, olej
Borneol	23,11	1722	1653-1728	10,4 ± 4,7	5,4 ± 5,2	–	Terpen	kafr, voňavý, zelený, lak
Germacren D	23,18	1725	1676-1726	–	1,2 ± 2,7	–	Terpen	–
o-(4-Butylbenzoyl)-O'-(isobutoxykarbonyl)-1,2-benzendiol	23,31	1730	–	–	0,1 ± 0,3	–	Aren	–
(Z,E)-α-Farnesen	23,49	1738	1713-1748	–	8,1 ± 9,6	–	Terpen	–
β-Eudesmen	23,62	1744	1686-1743	1,7 ± 2,3	–	–	Terpen	–
<b>(E)-Citral</b>	23,77	1751	1680-1750	6,5 ± 4,8	2,1 ± 8,7	6,4 ± 2,1	Terpen	citrón
(E,E)-α-Farnesen	23,98	1760	1714-1763	3,1 ± 3,5	0,9 ± 1,3	–	Terpen	vařená zelenina, květinový, dřevo
Geranylacetát	24,29	1774	1728-1772	–	10,0 ± 6,6	–	Terpen	levandule, růže
6,7-Dihydrogeraniol	24,37	1777	–	–	–	2,5 ± 0,2	Alkohol	–
<b>Citronellol</b>	24,43	1780	1734-1789	1,6 ± 0,9	7,4 ± 2,1	–	Terpen	citrus, zelený, růže
β-Seskvifelandren	24,56	1786	1748-1783	17,6 ± 18,1	–	–	Terpen	vařená zelenina, květinový, dřevo
α-Kurkumin	24,65	1790	–	23,9 ± 18,7	–	–	Terpen	–
1,7,7-Trimethylbicyklo[2.2.1]hept-5-en-2-ol	24,65	1790	–	–	0,5 ± 2,2	–	Alkohol	–
Citronellylbutyrát	25,11	1811	1765-1811	–	2,5 ± 1,2	–	Terpen	ovoce, růže
<b>(Z)-Geraniol</b>	25,92	1849	1795-1865	1,5 ± 1,7	1,5 ± 1,1	4,2 ± 11,4	Terpen	květinový, ovoce
Ethyllaurát	25,98	1852	–	1,3 ± 1,0	–	–	Ester	květinový, ovoce, list
<b>(E)-Geraniol</b>	26,31	1867	1795-1865	–	18,0 ± 7,0	–	Terpen	pelargonie, citrónová slupka, marakuja, broskev, růže
Geranylaceton	26,36	1869	–	–	–	2,0 ± 8,3	Terpen	ovoce

Tab. 26 Identifikované těkavé látky v meduňkových cukrovinkách a standardu – pokračování [40], [65]

Název	R <sub>T</sub> [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-M*	K-M*	STD*	Skupina	FEMA
Geranylbutyrát	27,18	1908	1833-1907	–	7,5 ± 3,3	–	Ester	jablko, ovoce, růže
α-Calacoren	27,81	1939	1893-1941	–	0,1 ± 0,2	–	Terpen	–
Germacren D-4-ol	28,15	1955	2000-2070	–	0,3 ± 0,4	–	Terpen	–
Citronellylkapronát	29,06	2000	–	–	0,1 ± 0,0	–	Ester	–
Karyofylen oxid	29,17	2003	1936-2023	–	0,8 ± 0,9	–	Terpen	byliny, zatuchlý, koření, dřevo
Methyleugenol	29,73	2022	1961-2033	–	2,4 ± 1,1	–	Ether	–
(E)-Nerolidol	30,08	2034	1955-2055	0,8 ± 1,1	–	–	Terpen	jedle, linoleum, borovice
2-(3-Isopropenyl-4-methyl-4-vinylcyklohexyl)-2-propanol	30,97	2063	–	–	1,8 ± 0,4	–	Alkohol	–
(Z)-Methylisoeugenol	31,34	2076	–	–	1,2 ± 1,4	–	Ether	–
β-Acorenol	32,09	2101	–	0,3 ± 0,0	–	–	Alkohol	–
Cedrelanol	32,73	2127	2136-2200	–	0,5 ± 0,3	–	Terpen	–
(E)-Methylisoeugenol	33,04	2140	–	–	7,2 ± 0,6	–	Ether	–
δ-Kadinol	33,40	2154	–	–	0,1 ± 0,7	–	Terpen	–
α-Eudesmol	33,81	2171	2186-2250	–	0,6 ± 2,2	–	Terpen	–
β-Eudesmol	33,98	2172	2196-2272	0,7 ± 0,9	–	–	Terpen	–
α-Kadinol	33,84	2178	2180-2255	–	0,3 ± 1,7	–	Terpen	–
Kyselina citronellová	34,38	2194	–	–	0,2 ± 0,2	–	Kyselina	květinový
Isoelemicin	36,87	2297	–	–	0,2 ± 0,2	–	Aren	–

\* Kódování vzorků viz Tab. 10

#### 4.6.2.2 Identifikované těkavé látky v zázvorových cukrovinkách

Těkavými látkami v zázvoru se zabývaly různé studie (viz kap. 2.2.2.1), které stanovily např. kamfen, zingiberen, 1,8-cineol,  $\beta$ -felandren,  $\alpha$ -pinen a  $\alpha$ -kurkumen [34], [35]. Identifikované látky zázvorových cukrovinek (vyrobený – komerční 1 – komerční 2) a standardu jsou uvedeny v Tab. 27.

Ve vyrobeném zázvorovém želé bylo identifikováno 26 těkavých látek. V největším zastoupení byly terpeny (13), dále pak estery (7), aldehydy (3), a poté po jednom alkohol, keton a kyselina. V použitém extraktu bylo identifikováno 24 těkavých látek. Vyšší množství látek může být způsobeno přidavkem zázvorového prášku a vodného extraktu. Z hlediska procentuálního množství byl v největší koncentraci zastoupen borneol (9,8 %), ethyllaurát (8,4 %), methyllaurát (7,8 %),  $\alpha$ -terpineol (7,7 %) a (E)-citral (7,8 %), dále pak (Z)-citral (6,1 %) a  $\alpha$ -kurkumin (5,0 %). Z těkavých alergenů byly ve vzorku identifikovány 4 – linalool, Z a E isomer citralu, citronellol a (Z)-geraniol.

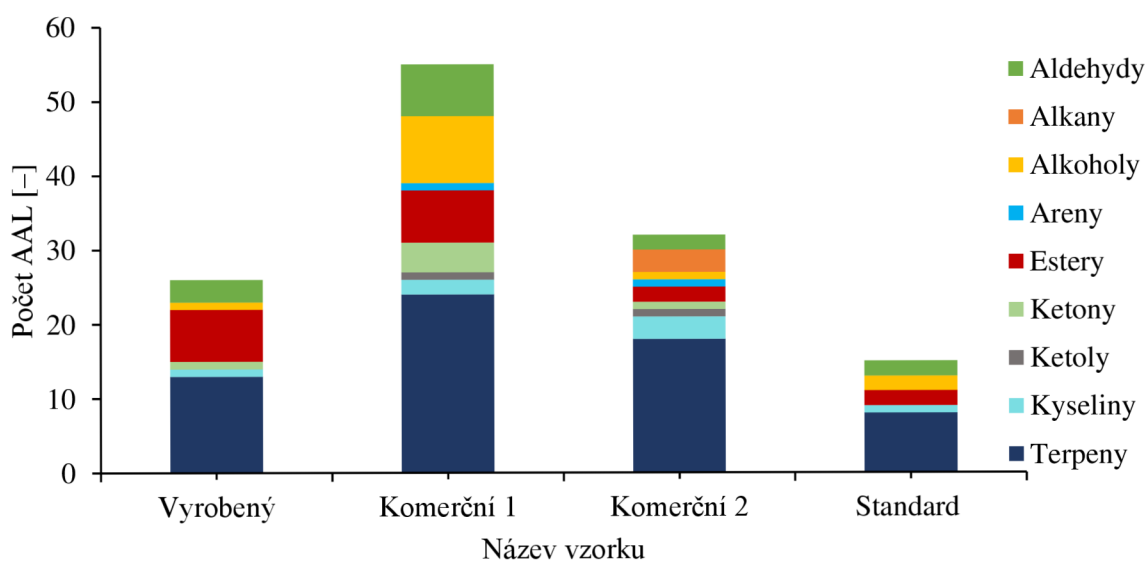
Komerční želé K-Z1 obsahovalo 55 těkavých látek, kde opět byly v největším zastoupení terpeny (24), dále alkoholy (9), aldehydy (7), estery (7), ketony (4), kyseliny (2), aren (1) a ketol (1). Z jednotlivých látek se v největší koncentraci vyskytoval sabinen (42,0 %) a další látky, jejichž obsah byl nad 5 %, byly limonen (8,5 %) a furfural (8,2 %). Stejně jako předchozí vyrobené želé obsahoval komerční vzorek K-Z1 4 alergeny – limonen, linalool, citronellol a (E)-geraniol.

V druhém komerčním vzorku K-Z2 bylo identifikováno 32 těkavých látek, kde bylo 18 terpenů, 3 kyseliny a alkany, 2 estery a aldehydy a po jednom se zde nacházel alkohol, aren, keton a ketol. V největším množství byl ve vzorku obsažen sabinen (13,4 %),  $\alpha$ -zingiberen (12,1 %), kamfen (11,5 %). Dále se jednalo o (E)-citral (9,5 %),  $\alpha$ -pinen (6,1 %) a  $\beta$ -seskvifelandren (5,6 %). Ve vzorku byly zároveň identifikovány 4 alergeny, kterými byly limonen, linalool, Z a E isomer citralu a (E)-geraniol.

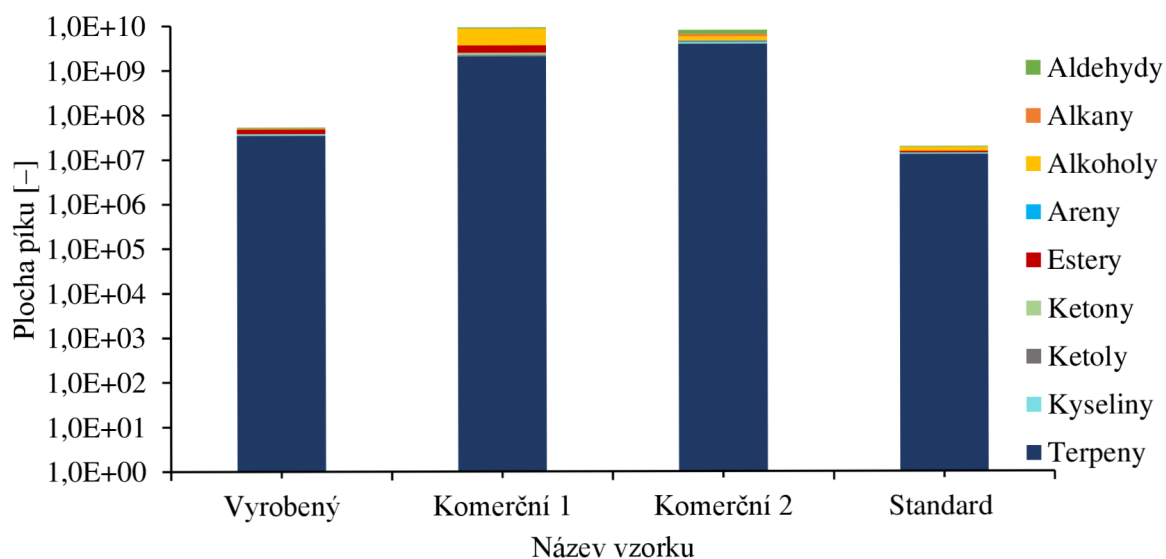
Stejně jako u meduňkových cukrovinek byl pro srovnání proměřen i standard bez přidavku extraktů a prášků – viz kap. 4.6.2.1. Zde bylo identifikováno 15 těkavých látek a 3 alergeny (linalool, Z a E isomer citralu, (Z)-geraniol).

Grafické znázornění (Obr. 45) ukazuje počet aromaticky aktivních látek v jednotlivých vzorcích. Největší počet byl v komerčním vzorku K-Z1, který obsahoval nejméně zázvoru ze tří vzorků (viz Tab. 11) – 0,9 % zázvorového prášku. Jedná se však o produkt z ekologického hospodářství (bio), který může mít velký podíl na kvalitě zázvoru, a tedy i množství těkavých látek. Nejméně těkavých látek bylo obsaženo ve vyrobeném vzorku. Rozdíl mezi vzorky byl pravděpodobně způsoben lepší extrakcí těkavých látek ze zázvoru.

Na Obr. 46 lze pozorovat srovnání z hlediska obsahu těkavých látek dle plochy píku. Je zde zobrazen značně velký rozdíl mezi komerčními vzorky a vyrobeným želé, které se mezi sebou lišily o dva řády. Komerční vzorky měly podobný obsah těkavých látek, i přestože vzorek K-Z2 obsahuje nejvíce zázvoru (10,5 %), ačkoli výrobce nedeclaruje, v jaké formě byl přidán. Vyrobený vzorek byl řádově blíže ke standardu.



Obr. 45 Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek v zázvorovém žele a standardu



Obr. 46 Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek v zázvorovém žele a standardu

Tab. 27 Identifikované těkavé látky v zázvorových cukrovinkách a standardu [40], [65]

Název	$R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-Z*	K-Z1*	K-Z2*	STD*	Skupina	FEMA
$\alpha$ -Pinen	5,77	1026	1008-1039	–	1,1 $\pm$ 0,1	6,1 $\pm$ 1,9	–	Terpen	cedrové dřevo, borovice, ostrý
Ethyl-2-methylbutyrát	6,55	1063	–	–	2,2 $\pm$ 0,5	–	–	Ester	jablko, ester, zelené jablko, kiwi, jahoda
Kamfen	6,70	1070	1043-1086	–	1,3 $\pm$ 1,3	11,5 $\pm$ 7,2	–	Terpen	kafr, naftalínová kulička, olej, teplý
Dodekan	6,97	1083	–	–	–	1,3 $\pm$ 5,6	–	Alkan	–
Butylacetát	7,03	1086	–	–	0,6 $\pm$ 0,3	–	–	Ester	jablko, banán, lepidlo, štiplavý
Hexanal	7,29	1099	1056-1106	–	0,5 $\pm$ 6,0	–	–	Aldehyd	jablko, tuk, svěžest, zelený, olej
$\beta$ -Pinen	7,73	1116	1085-1130	–	0,3 $\pm$ 4,1	–	–	Terpen	borovice, leštadlo, dřevo
Isoamylacetát	8,27	1137	1102-1140	–	0,2 $\pm$ 0,3	–	–	Ester	jablko, banán, lepidlo, hruška
$\beta$ -Myrcen	9,31	1178	1140-1175	–	1,4 $\pm$ 4,9	4,9 $\pm$ 0,4	–	Terpen	balsamico, ovoce, pelargonie, byliny, zatuchlý
<b>Limonen</b>	10,13	1209	1178-1219	–	8,5 $\pm$ 0,6	4,3 $\pm$ 1,2	–	Terpen	citrus, máta
Sabinen	10,50	1222	1098-1140	–	42,0 $\pm$ 0,3	13,4 $\pm$ 3,7	–	Terpen	–
2,7,10-Trimethyl-dodekan	10,97	1240	–	–	–	1,9 $\pm$ 3,9	–	Alkan	–
Ethylkapronát	11,19	1248	1216-1258	–	0,4 $\pm$ 2,0	–	–	Ester	jablečná slupka, brandy, ovocná žvýkačka, přezrálé ovoce, ananas
Hexadekan	11,53	1261	–	–	–	0,6 $\pm$ 4,3	–	Alkan	–
o-Cymen	12,24	1287	1248-1310	–	0,5 $\pm$ 7,1	0,8 $\pm$ 4,1	–	Terpen	–
Oktanal	12,67	1303	1267-1312	–	0,1 $\pm$ 0,9	–	–	Aldehyd	citrusy, tuk, zelený, olej, štiplavý



Tab. 27 Identifikované těkavé látky v zázvorových cukrovinkách a standardu – pokračování [40], [65]

Název	$R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-Z*	K-Z1*	K-Z2*	STD*	Skupina	FEMA
Acetol	13,27	1326	–	–	0,2 ± 0,3	1,1 ± 3,0	–	Ketol	máslo, byliny, slad, štiplavý
2-Heptanol	13,40	1331	1284-1335	–	0,2 ± 0,1	–	–	Alkohol	citrus, hlína, smažený, houby, olej
Sulcaton	13,97	1352	1317-1357	1,8 ± 1,0	1,0 ± 7,0	0,7 ± 2,7	–	Keton	citrus, houby, pepř, guma, jahoda
1-Hexanol	14,43	1369	1316-1377	–	0,3 ± 1,5	–	–	Alkohol	banán, květina, tráva, byliny
Methylkaprylát	15,24	1400	1375-1410	0,6 ± 0,2	–	–	–	Ester	ovoce, pomeranč, vosk, víno
(E)-3-Hexen-1-ol	15,33	1403	1344-1399	–	1,6 ± 2,3	–	–	Alkohol	zelený
Nonanal	15,42	1407	1370-1414	3,1 ± 0,8	0,5 ± 2,1	–	2,0 ± 1,1	Aldehyd	tuk, květinový, zelený, citrón
Ethylkaprylát	16,41	1445	1416-1458	2,7 ± 1,6	0,1 ± 0,1	–	2,3 ± 3,1	Ester	meruňka, brandy, tuk, květinový, ananas
(Z)-Linalool oxid	16,80	1461	1410-1478	–	1,1 ± 1,1	–	–	Terpen	–
Kyselina octová	17,39	1483	1408-1479	1,9 ± 0,4	–	2,0 ± 2,5	3,0 ± 7,6	Kyselina	kyselina, ovoce, štiplavý, kyselý, ocet
Furfural	17,47	1487	1432-1490	4,9 ± 2,2	8,2 ± 1,6	1,5 ± 1,3	15,2 ± 16,4	Aldehyd	mandle, pečené brambory, chleba, spálenina, koření
2-Ethyl-1-hexanol	17,83	1501	1452-1513	1,7 ± 1,1	0,4 ± 0,8	–	3,5 ± 13,4	Alkohol	zelený, růže
α-Kopaen	17,97	1507	1462-1522	–	–	0,9 ± 2,0	–	Terpen	–
Dekanal	18,14	1513	1471-1516	–	0,2 ± 1,5	–	–	Aldehyd	květinový, smažený, pomerančová slupka, pronikavý
Acetylfuran	18,54	1530	1468-1531	–	0,5 ± 0,2	–	–	Keton	balsamico, kakao, káva
Ethyl-3-hydroxybutyrát	18,64	1534	–	2,5 ± 1,2	–	–	2,6 ± 1,3	Ester	marshmallow, pražený ořech

Tab. 27 Identifikované těkavé látky v zázvorových cukrovinkách a standardu – pokračování [40], [65]

Název	$R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-Z*	K-Z1*	K-Z2*	STD*	Skupina	FEMA
Kafr	18,77	1539	1481-1537	–	0,2 ± 0,7	–	–	Terpen	máta, chladivý
Benzaldehyd	18,93	1545	1481-1555	1,8 ± 1,0	–	–	–	Aldehyd	hořká mandle, spálený cukr, třešeň, slad, pražený pepř
<b>Linalool</b>	19,28	1560	1507-1564	4,4 ± 2,9	1,7 ± 9,2	0,6 ± 1,4	4,4 ± 4,9	Terpen	koriandr, květinový, levandule, citrón, růže
Bornylacetát	20,15	1595	1549-1597	–	–	2,0 ± 4,6	–	Ester	byliny, borovice, zelený, květinový
2,3-Butandiol	20,29	1601	–	–	0,4 ± 0,4	–	–	Alkohol	–
β-Element	20,37	1604	1565-1608	–	–	0,5 ± 1,4	–	Terpen	–
1,2-Propandiol	20,70	1618	–	–	1,6 ± 9,6	–	–	Alkohol	–
Terpinen-4-ol	20,90	1627	1564-1630	2,3 ± 2,4	0,3 ± 0,2	–	2,3 ± 2,6	Terpen	hlína, zatuchlý, muškátový oříšek, dřevo
5,5-dimethyl-furan-2-on	21,22	1640	–	–	0,1 ± 0,1	–	–	Keton	–
Ethylkaprinát	21,39	1647	1616-1660	1,7 ± 0,8	–	–	–	Ester	brandy, hroznové víno, hruška
Menthol	21,69	1660	1599-1651	–	0,3 ± 1,1	–	–	Terpen	máta, chladivý
Butyrolakton	21,80	1665	–	–	0,1 ± 0,1	–	–	Keton	karamel, sýr, pražený ořech
Methyl-4-decenoát	22,14	1679	–	4,7 ± 0,8	–	–	–	Ester	–
2-Furan-methanol	22,31	1686	1618-1688	–	3,0 ± 5,3	0,5 ± 0,3	–	Alkohol	spálenina, karamel, vařený
<b>(Z)-Citral</b>	22,63	1699	1641-1706	6,1 ± 4,5	–	2,3 ± 3,8	3,1 ± 5,7	Terpen	citrón
Isoitalicen	22,81	1708	–	–	–	0,7 ± 1,5	–	Aren	–
α-Terpineol	22,94	1714	1659-1724	7,7 ± 3,3	2,5 ± 2,4	–	15,0 ± 10,3	Terpen	anýz, svěžest, máta, olej
Borneol	23,11	1722	1653-1728	9,8 ± 8,2	4,4 ± 3,2	2,2 ± 0,7	31,6 ± 11,8	Terpen	kafr, voňavý, zelený, lak
α-Zingiberen	23,49	1738	1696-1743	4,6 ± 13,3	–	12,1 ± 8,5	–	Terpen	–

Tab. 27 Identifikované těkavé látky v zázvorových cukrovinkách a standardu – pokračování [40], [65]

Název	$R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-Z*	K-Z1*	K-Z2*	STD*	Skupina	FEMA
7-epi-Seskvithujen	23,49	1738	–	–	1,5 ± 1,1	–	–	Terpen	–
β-Bisabolen	23,63	1743	1698-1748	–	0,4 ± 0,8	3,5 ± 5,1	–	Terpen	–
<b>(E)-Citral</b>	23,77	1751	1680-1750	7,2 ± 8,1	–	9,5 ± 1,2	6,4 ± 2,1	Terpen	citrón
(E,E)-α-Farnesen	23,98	1760	1714-1763	–	–	1,8 ± 3,6	–	Terpen	vařená zelenina, květinový, dřevo
Karvon	24,01	1761	1699-1751	2,5 ± 10,7	2,5 ± 3,3	–	–	Terpen	bazalka, hořká, kmín, fenykl, máta
Geranylacetát	24,29	1774	1728-1772	–	–	1,5 ± 3,2	–	Terpen	levandule, růže
6,7-Dihydrogeraniol	24,37	1777	–	–	–	–	2,5 ± 0,2	Alkohol	–
Citronellol	24,43	1780	1734-1789	1,8 ± 2,1	0,6 ± 1,4	–	–	Terpen	citrus, zelený, růže
β-Seskvifelandren	24,56	1786	1748-1783	1,8 ± 1,0	0,5 ± 1,4	5,6 ± 8,0	–	Terpen	vařená zelenina, květinový, dřevo
α-Kurkumin	24,65	1790	–	5,0 ± 0,3	1,8 ± 1,2	–	–	Terpen	–
Methylaurát	25,15	1812	–	7,8 ± 5,5	–	–	–	Ester	–
<b>(Z)-Geraniol</b>	25,92	1849	1795-1865	2,3 ± 23,6	–	–	4,2 ± 11,4	Terpen	květinový, ovoce
Ethyllaurát	25,98	1852	–	8,4 ± 0,2	–	–	–	Ester	květinový, ovoce, list
Anethol	26,07	1856	1802-1846	–	0,2 ± 0,6	–	–	Aren	anýz
<b>(E)-Geraniol</b>	26,31	1867	1795-1865	–	0,6 ± 3,0	0,7 ± 0,3	–	Terpen	pelargonie, citrónová slupka, marakuja, broskev, růže
Geranylaceton	26,36	1869	–	–	–	–	2,0 ± 8,3	Terpen	ovoce
p-Cymen-8-ol	26,51	1876	1813-1865	–	0,2 ± 1,4	–	–	Terpen	–
Kyselina kapronová	26,69	1885	1807-1873	–	1,1 ± 0,7	1,5 ± 4,4	–	Kyselina	sýr, olej, štiplavý, kyselý

Tab. 27 Identifikované těkavé látky v zázvorových cukrovinkách a standardu – pokračování [40]

Název	$R_T$ [min]	RI	RI <sub>lit</sub>	OPT-Z*	K-Z1*	K-Z2*	STD*	Skupina	FEMA
2,2,4-trimethyl-1,3,- pentan- dioldiisobutyrát	26,85	1892	–	–	0,4 ± 1,5	–	–	Ester	–
Fenylacetát	27,93	1944	1859-1944	–	0,3 ± 1,3	–	–	Ester	–
1-Dodekanol	28,77	1985	1924-1980	–	0,2 ± 0,5	–	–	Alkohol	–
Kyselina enanthová	28,91	1992	1916-1993	–	0,1 ± 0,1	–	–	Kyselina	meruňka, květinový, kyselý
2-Methylnonandial	30,69	2054	–	–	0,1 ± 1,3	–	–	Aldehyd	–
Kyselina kaprylová	31,00	2064	2011-2089	–	–	2,6 ± 7,4	–	Kyselina	sýr, tuk, tráva, olej
1,2-Diacetin	31,06	2066	–	–	0,8 ± 0,4	–	–	Ester	–
Guaiol	32,20	2105	2061-2104	–	0,2 ± 0,2	–	–	Terpen	–
Thymol	33,72	2167	2100-2205	1,0 ± 2,7	0,4 ± 0,4	–	–	Terpen	koření, dřevo
Isobutyl-2-enanthoát	34,30	2191	–	–	–	0,4 ± 0,0	–	Ester	–
5-Hydroxy- methylfurfural	39,21	2393	–	–	0,1 ± 0,4	1,0 ± 1,0	–	Aldehyd	–

\* Kódování vzorků viz Tab. 10

### 4.6.3 Stanovení celkového obsahu fenolů ve vzorcích cukrovinek

Obsah fenolických látek byl stanoven spektrofotometricky pomocí Folin-Cicalteuova činidla (kap. 2.5.4). Každý vzorek byl proměřen třikrát ( $n = 3$ ) a následně zprůměrován. Hodnoty jsou uvedeny v Tab. 28 a grafické srovnání je na Obr. 47.

Vyšší obsah fenolických látek obecně obsahovaly meduňkové cukrovinky, u zázvorových měl největší koncentraci komerční vzorek K-Z2. Nejnižší obsah fenolů měl zázvorový komerční vzorek K-Z2. Určitá koncentrace fenolických látek byla stanovena i u standardu. Příčinou bude pravděpodobně specifita Folin-Cicalteuova činidla na polyfenoly, která není 100 %. Činidlo reaguje i s dalšími látkami, jako jsou redukční činidla (př. kyselina citrónová), cukry nebo některé aminokyseliny [73]. V případě standardu se tedy podle všeho jednalo o kyselinu citrónovou. Každopádně přídavek bylin podle očekávání výrazně zvýšil obsah fenolických látek v cukrovinkách.

Obsah fenolických látek v meduňkových cukrovinkách lze srovnat s literaturou, kde se běžně udává rozmezí okolo  $0,13\text{-}269 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  [30]. Přičemž vyrobené i komerční meduňkové vzorky se nacházely v tomto rozmezí, i přestože bylo do cukrovinky aplikováno malé množství meduňky.

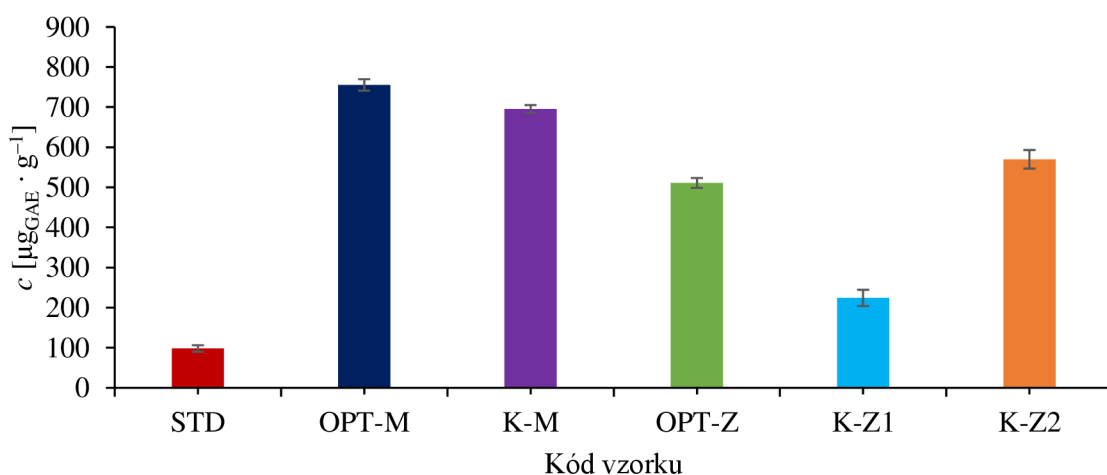
U zázvorového žele se hodnoty neshodují se studiemi, kde stanovili  $931,94 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  [36] a  $60,34 \pm 0,43 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  [66]. Příčinou bude pravděpodobně sofistikovanější metoda extrakce fenolických látek ze zázvoru a zároveň mohlo dojít k degradaci některých fenolů vlivem tepelné úpravy.

I přestože vyrobené vzorky obsahovaly značně nižší počet a obsah těkavých látek než komerční (kap. 4.6.2), v případě fenolických látek se jednalo o podobné koncentrace.

Tab. 28 Obsah fenolických látek ve vyrobených a komerčních cukrovinkách

Vzorek*	$\sigma A_{765} [-]$	$c [\mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}]$
STD	0,148	$98,2 \pm 8,1$
OPT-M	1,138	$755,5 \pm 14,3$
K-M	1,048	$695,5 \pm 9,8$
OPT-Z	0,770	$511,0 \pm 12,3$
K-Z1	0,338	$224,3 \pm 20,2$
K-Z2	0,859	$569,9 \pm 23,2$

\* Kódování vzorků viz Tab. 11



Obr. 47 Srovnání obsahu fenolických látek ve vyrobených a komerčních cukrovinkách (zleva – standard, vyrobený meduňkový, komerční meduňkový, vyrobený zázvorový, komerční zázvorový 1, komerční zázvorový 2)

#### 4.6.4 Stanovení antioxidační aktivity vzorků cukrovinek

Antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometrickou metodou TEAC za pomoci radikálového činidla ABTS (kap. 2.5.1.1). Každý vzorek byl proměřen dvakrát ( $n = 2$ ) a hodnoty byly zapsány ve formě průměru v Tab. 29. Byla navíc vypočítána i procenta zhášení radikálu. Grafické zobrazení hodnot je uvedeno na Obr. 48.

Nejvyšší obsah antioxidantů byl naměřen v komerčním zázvorovém vzorku K-Z2, dále pak v meduňkových vzorcích. Nejnižší antioxidační aktivitu vykazoval standard. Stejně jako u TPC stanovení, i zde byla naměřena určitá antioxidační aktivita, což bylo pravděpodobně způsobeno přidavkem kyseliny citrónové, která působí jako antioxidant. Zároveň lze sledovat, že s vyšší koncentrací antioxidantů se zvyšovalo procento zhášení neboli množství radikálu v měřeném roztoku.

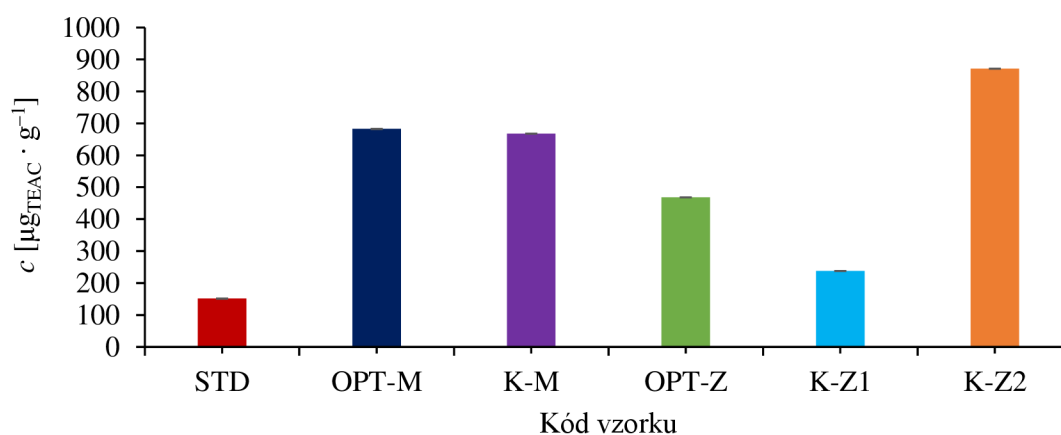
Studie, které se zabývaly stanovením antioxidační aktivity (viz kap. 4.5.3) v meduňce, stanovily  $0,48 \text{ mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$  a  $0,62 \text{ mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$  [67], v další byla stanovena procenta zhášení na  $46,17 \pm 4,7 \%$  [68]. Meduňkové vzorky měly oproti literatuře nižší koncentrace antioxidantů, což bylo způsobeno pravděpodobně tím, že se do cukrovinek přidávala pouze část extraktu a výsledná hodnota nebyla tak vysoká, zároveň mohlo dojít k degradaci antioxidantů vlivem tepla při přípravě cukrovinek. Avšak z hlediska procent zhášení bylo množství antioxidantů dostatečně silné, aby bylo větší než zmiňovaná studie.

Antioxidační aktivita zázvoru (viz kap. 4.5.3) byla změřena několika studiemi, které stanovily množství antioxidantů  $48,07\text{--}81,95 \text{ mg}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$  (v přepočtu  $12,03\text{--}20,51 \text{ mmol}_{\text{TE}} \cdot \text{g}^{-1}$ ) [69]. V jiné studii měřili schopnost zhášení radikálu, kde naměřili  $99,06 \pm 1,00 \%$  a  $90,02 \pm 0,08 \%$  [66]. V porovnání se zázvorovými vzorky byly naměřené koncentrace výrazně nižší. Opět pravděpodobným faktorem bylo přidání malého množství zázvoru do cukrovinky, ale zároveň z výsledků měření antioxidační aktivity extraktů (viz Tab. 23) se spíše bude jednat o šetrnější metodu extrakce antioxidantů ze zázvoru.

Tab. 29 Antioxidační aktivita ve vyrobených a komerčních cukrovinkách

Vzorek*	$\sigma A_{734}$ [-]	X [%]	c [mmol <sub>TE</sub> · g <sup>-1</sup> ]
STD	0,102	4,3	$0,61 \pm 0,05 \cdot 10^{-3}$
OPT-M	0,462	55,2	$2,73 \pm 0,13 \cdot 10^{-3}$
K-M	0,452	53,8	$2,67 \pm 0,05 \cdot 10^{-3}$
OPT-Z	0,317	34,7	$1,87 \pm 0,16 \cdot 10^{-3}$
K-Z1	0,161	12,6	$0,95 \pm 0,24 \cdot 10^{-3}$
K-Z2	0,590	73,3	$3,48 \pm 0,08 \cdot 10^{-3}$

\* Kódování vzorků viz Tab. 11



Obr. 48 Srovnání antioxidační aktivity ve vyrobených a komerčních cukrovinkách (zleva – standard, vyrobený meduňkový, komerční meduňkový, vyrobený zázvorový, komerční zázvorový 1, komerční zázvorový 2)

## 5 ZÁVĚR

Hlavním cílem této práce byla aplikace bylinných extraktů do želatinových cukrovinek a jejich charakterizace z hlediska nutriční a sensorické kvality a těkavých látek s důrazem na alergenitu.

Pro přípravu extraktů byly zvoleny meduňka (*Melissa officinalis*) a zázvor (*Zingiber officinale*), které se běžně užívají v tradiční medicíně díky vysokému obsahu bioaktivních látek. Obě rostliny jsou silně aromatické a určují tak sensorický profil, především z hlediska chuti, vyrobených vzorků.

Extrakty byly připraveny macerací v ethanolovém roztoku a následně odpařeny na vakuové odparce do dosažení viskóznější konzistence. Postup získávání extraktu byl převzat z předchozích prací nebo byl optimalizován v rámci práce, a u jednotlivých bylin se mírně lišil:

- meduňka – macerace ve 40% ethanolu při 60 °C po dobu 60 minut, navážka 10 g / 100 ml,
- zázvor – macerace v 70% ethanolu při 60 °C po dobu 90 minut, navážka 10 g / 50 ml.

Pro dodání barvy a chuti byly z příslušných bylin připraveny také „prášky,“ tj. nasušené a rozemleté byliny na prach.

Následně byl optimalizován postup výroby želé cukrovinek, resp. optimální přidavek extraktu (15 % hm.) a „prášku“ (1 % hm.), který byl stanoven vždy na základě sensorického zhodnocení. Meduňkový extrakt dodal cukrovinkám světlou hnědooranžovou barvu, s přidavkem prášku se barva změnila na hnědozelenou; z hlediska chuti bylo želé příjemně bylinné. Zázvorový extrakt nebyl sám o sobě výrazný z hlediska barvy, ale i přesto cukrovinky obarvil do příjemně žluté barvy, přidavek prášku způsobil změnu na oranžovožlutou; chuť zázvorového želé byla jemně pálivá.

Jak extrakty, tak vyrobené cukrovinky byly charakterizovány z hlediska profilu a obsahu těkavých látek, fenolických látek a antioxidační aktivity. Cukrovinky byly také sensoricky hodnoceny a srovnány s komerčními cukrovinkami. Hlavním záměrem bylo zjistit, zda bude mít přidavek extraktů/prášků vliv na uvedené parametry.

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS, u níž byly nejprve ověřeny vybrané validační parametry (linearita, limity detekce a stanovitelnosti, opakovatelnost, reprodukovatelnost) pomocí 23 těkavých alergenů.

V připravených extraktech byly podle očekávání detekovány těkavé aromatické látky, fenolické sloučeniny i antioxidační aktivita, tyto se následně promítly do naměřených hodnot vyrobených želé cukrovinek, které se ve většině sledovaných parametrů výrazně lišily od vyrobeného standardu, tj. vzorek bez přídatku bylin.

U vyrobených meduňkových vzorků bylo identifikováno 32 těkavých látek, z toho 4 alergenitu (linalool, Z a E isomer citralu, citronellol, Z a E isomer geraniolu). Vyrobené zázvorové želé obsahovalo 26 těkavých látek, 4 alergenitu – linalool, Z a E isomer citralu, citronellol a (Z)-geraniol.

Zajímavá byla detekovaná přítomnost alergenů v komerčních vzorcích: v meduňkovém 5 (limonen, linalool, Z a E isomer citralu, citronellol, Z a E isomer geraniolu); v zázvorovém 4 (limonen, linalool, citronellol, (E)-geraniol) a ve druhém také 4 (limonen, linalool, Z a E isomer citralu a (E)-geraniol).

Ve všech vzorcích jednoznačně převažovaly, z hlediska počtu i obsahu, terpeny.



Želé cukrovinky s příchutí meduňky vykazovaly vyšší obsah fenolických sloučenin ( $755,5 \pm 14,3 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ ) i antioxidační aktivitu (procento zhášení radikálu 55,2 %), než želé s přídavkem zázvoru ( $511,0 \pm 12,3 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ , 34,7 %); v obou případech ale výrazně vyšší než standard ( $98,2 \pm 8,1 \mu\text{g}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ , 4,3 %).

Na druhou stranu byly naměřené hodnoty významně nižší než v extraktech, což je pravděpodobně způsobeno jednak relativně malým přídavkem extraktu/prášku do cukrovinek, zároveň mohlo dojít k degradaci některých z těchto bioaktivních látek vlivem tepla.

Z výsledků práce vyplývá, že přídavek bylin má vliv na nutriční (vyšší antioxidační aktivita a obsah fenolických sloučenin) i senzorickou (atraktivní barva, příjemně vyvážená sladko-kyselá, jemně bylinná chuť) hodnotu vyrobených želé cukrovinek. Z hlediska sensorického byly vyrobené vzorky hodnoceny dokonce jako lepší/chutnější než vzorky komerční.

## 6 SEZNAM LITERÁRNÍCH ZDROJŮ

- [1] Vyhláška č. 76/2003 Sb.: Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. In: Sbírka zákonů. Česká republika, 2003, ročník 2003, 32/2003, číslo 76. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76#oddil3>.
- [2] ČOPIKOVÁ, Jana. Technologie čokolády a cukrovinek. 2. přepracované a aktualizované vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2020. ISBN 978-80-7592-077-5.
- [3] VON MOLITOR, Elena, Katja RIEDEL, Michael KROHN, Mathias HAFNER, Rüdiger RUDOLF a Tiziana CESETTI. Sweet Taste Is Complex: Signaling Cascades and Circuits Involved in Sweet Sensation. *Frontiers in Human Neuroscience* [online]. 2021, 15 [cit. 2021-12-20]. ISSN 1662-5161. Dostupné z: doi:10.3389/fnhum.2021.667709.
- [4] SKOUPIL, Jan. Suroviny a polotovary pro cukrářskou výrobu. Brno: Společenstvo cukrářů České republiky, 2005. ISBN 80-239-6061-X.
- [5] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. In: Úřední věstník Evropské unie. Evropská unie, 2008, ročník 2008, číslo 1333. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02008R1333-20210808>.
- [6] TANDEL, KirtidaR. Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* [online]. 2011, 2(4) [cit. 2021-12-20]. ISSN 0976-500X. Dostupné z: doi:10.4103/0976-500X.85936.
- [7] PRAVEENA, Sarva Mangala, Manraj Singh CHEEMA a How-Ran GUO. Non-nutritive artificial sweeteners as an emerging contaminant in environment: A global review and risks perspectives. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. 2019, 170, 699-707 [cit. 2021-12-20]. ISSN 01476513. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2018.12.048.
- [8] NABORS, Lyn O'Brien. *Alternative sweeteners*. 3rd ed., rev. and expanded. New York: M. Dekker, c2001. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 112. ISBN 0-8247-0437-1.
- [9] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1049/2012 ze dne 8. listopadu 2012, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008, pokud jde o používání polyglycitolového sirupu v několika kategoriích potravin. In: Úřední věstník Evropské unie. Evropská unie, 2012, ročník 2012, číslo 1049. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32012R1049>.
- [10] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 497/2014 ze dne 14. května 2014, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 a příloha nařízení Komise (EU) č. 231/2012, pokud jde o použití advantamu jako sladidla. In: Úřední věstník Evropské unie. Evropská unie, 2014, ročník 2014, číslo 497. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32014R0497>.
- [11] JI YUE, ZHANG, ZHANG JIAN BO, YU HANG YU, YONG LING, ZHANG HONG, WANG HUA LI a WENG YUN XUAN. EditorTheoretical Risk Assessment of Dietary Exposure toAdvantame among the Chinese Population. *Biomedical and Environmental Sciences* [online]. 2019, 28. října 2019, 32(12), 930-933 [cit. 2021-12-21]. Dostupné z: doi:10.3967/bes2019.117.
- [12] Scientific Opinion on the use of Polyglycitol Syrup as a food additive. *EFSA Journal* [online]. 2009, 7(12) [cit. 2021-12-21]. ISSN 18314732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2009.1413.
- [13] Nařízení Komise (EU) 2021/1156 ze dne 13. července 2021, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 a příloha nařízení Komise (EU) č. 231/2012, pokud jde o steviol-glykosidy (E 960) a rebaudiosid M produkované

- enzymatickou modifikací steviol-glykosidů ze stévie. In: Úřední věstník Evropské unie. Evropská unie, 2021, ročník 2021, číslo 1156. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32021R1156>.
- [14] GERWIG, Gerrit J., Evelien M. TE POELE, Lubbert DIJKHUIZEN a Johannis P. KAMERLING. Stevia Glycosides [online]. Elsevier, 2016, 2016, s. 1-72 [cit. 2021-12-22]. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. ISBN 9780128099834. Dostupné z: doi:10.1016/bs.accb.2016.05.001.
- [15] Fér potravina [online]. c2022 [cit. 2022-02-19]. Dostupné z: <https://www.ferpotravina.cz/>.
- [16] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [17] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1334/2008 ze dne 16. prosince 2008: o aromatech a některých složkách potravin s aromatickými vlastnostmi pro použití v potravinách nebo na jejich povrchu a o změně nařízení Rady (EHS) č. 1601/91, nařízení (ES) č. 2232/96 a č. 110/2008 a směrnice 2000/13/ES. In: . Evropská unie: Úřední věstník Evropské unie, 2008, ročník 2008, číslo 1334. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:02008R1334-20211124>.
- [18] PIZZONI, D., D. COMPAGNONE, C. DI NATALE, N. D'ALESSANDRO a P. PITTIA. Evaluation of aroma release of gummy candies added with strawberry flavours by gas-chromatography/mass-spectrometry and gas sensors arrays. Journal of Food Engineering [online]. 2015, 167, 77-86 [cit. 2022-02-21]. ISSN 02608774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.03.003.
- [19] SUKEAW SAMAKRADHAMRONGTHAI, Rajnibhas a Tarudee JANNU. Effect of stevia, xylitol, and corn syrup in the development of velvet tamarind (*Dialium indum* L.) chewy candy. Food Chemistry [online]. 2021, 352 [cit. 2022-02-21]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.129353.
- [20] RIBEIRO DOS SANTOS, Raquel Anne, Maria Terezinha SANTOS LEITE NETA, Maria Aparecida AZEVEDO PEREIRA DA SILVA, Marcelo Augusto GUTIERREZ CARNELOSSI a Narendra NARAIN. Process optimization for elaboration of cajá-umbu (*Spondias* spp.) fruit jelly: The effect of pulp and pectin contents on sensory attributes and volatile constituents. International Journal of Gastronomy and Food Science [online]. 2021, 24 [cit. 2022-02-21]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2021.100315.
- [21] Základy potravinářských technologií: Spracovanie rastlinných a živočíšnych surovín cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín. Bratislava: Malé centrum, 1996. ISBN 80-967064-1-1.
- [22] SIK, Beatrix, Erika Hanczné LAKATOS, Viktória KAPCSÁNDI, Rita SZÉKELYHIDI a Zsolt AJTONY. Exploring the rosmarinic acid profile of dark chocolate fortified with freeze-dried lemon balm extract using conventional and non-conventional extraction techniques. LWT [online]. 2021, 147 [cit. 2022-03-19]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2021.111520.
- [23] GREMSKI, Leonardo Augusto, Ana Letícia Kincheski COELHO, Jânio Sousa SANTOS, et al. Antioxidants-rich ice cream containing herbal extracts and fructooligosaccharides: manufacture, functional and sensory properties. Food Chemistry [online]. 2019, 298 [cit. 2022-03-19]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2019.125098.
- [24] KUMAR, Vikas, Rinku KUSHWAHA, Ankit GOYAL, Beenu TANWAR a Jaspreet KAUR. Process optimization for the preparation of antioxidant rich ginger candy using beetroot pomace extract. Food Chemistry [online]. 2018, 245, 168-177 [cit. 2022-03-19]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2017.10.089.

- [25] ANITA, Niska, SARTINI a Gemini ALAM. Ginger candy (*Zingiber officinale*) reduces the frequency of vomiting of first-trimester pregnant women with emesis gravidarum. *Enfermería Clínica* [online]. 2020, 30, 536-538 [cit. 2022-03-19]. ISSN 11308621. Dostupné z: doi:10.1016/j.enfcli.2020.03.014.
- [26] SON, Yang-Ju, Jai-Eok PARK, Junho KIM, Gyhye YOO a Chu Won NHO. The changes in growth parameters, qualities, and chemical constituents of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) cultivated in three different hydroponic systems. *Industrial Crops and Products* [online]. 2021, 163 [cit. 2022-03-19]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2021.113313.
- [27] SPADACCINO, G., L. FRABBONI, F. PETRUZZI, G. DISCIGLIO, A. MENTANA, D. NARDIELLO a M. QUINTO. Essential oil characterization of *Prunus spinosa* L., *Salvia officinalis* L., *Eucalyptus globulus* L., *Melissa officinalis* L. and *Mentha x piperita* L. by a volatolomic approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2021, 202 [cit. 2022-03-26]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2021.114167.
- [28] ABDELLATIF, Fahima, Muhammad AKRAM, Samir BEGAA, et al. Minerals, Essential Oils, and Biological Properties of *Melissa officinalis* L. *Plants* [online]. 2021, 10(6) [cit. 2022-03-26]. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants10061066.
- [29] GHASEMI PIRBALOUTI, Abdollah, Mahdieh NEKOEI, Mehdi RAHIMMALEK a Fatemeh MALEKPOOR. Chemical composition and yield of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under foliar applications of jasmonic and salicylic acids. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [online]. 2019, 19 [cit. 2022-03-26]. ISSN 18788181. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcab.2019.101144.
- [30] BONEZA, Maxime M. a Emily D. NIEMEYER. Cultivar affects the phenolic composition and antioxidant properties of commercially available lemon balm (*Melissa officinalis* L.) varieties. *Industrial Crops and Products* [online]. 2018, 112, 783-789 [cit. 2022-03-26]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2018.01.003.
- [31] MOACĂ, Elena-Alina, Claudia FARCAȘ, Alexandra GHIȚU, et al. A Comparative Study of *Melissa officinalis* Leaves and Stems Ethanolic Extracts in terms of Antioxidant, Cytotoxic, and Antiproliferative Potential. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [online]. 2018, 2018, 1-12 [cit. 2022-03-26]. ISSN 1741-427X. Dostupné z: doi:10.1155/2018/7860456.
- [32] INDIARTO, R., E. SUBROTO, ANGELINE a SELLY. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*) functionality in food and health perspective: a review. *Food Research* [online]. 2020, 5(1), 497-505 [cit. 2022-03-26]. ISSN 25502166. Dostupné z: doi:10.26656/fr.2017.5(1).361.
- [33] KIYAMA, Ryoiti. Nutritional implications of ginger: chemistry, biological activities and signaling pathways. *The Journal of Nutritional Biochemistry* [online]. 2020, 86 [cit. 2022-03-26]. ISSN 09552863. Dostupné z: doi:10.1016/j.jnutbio.2020.108486.
- [34] AHMED, Lamiaa Ibrahim, Nehal IBRAHIM, Ayah Badawy ABDEL-SALAM a Karima Mogahed FAHIM. Potential application of ginger, clove and thyme essential oils to improve soft cheese microbial safety and sensory characteristics. *Food Bioscience* [online]. 2021, 42 [cit. 2022-03-26]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2021.101177.
- [35] AL-DHAHLI, Aaisha S., Fatema A. AL-HASSANI, Khaloud MOHAMMED ALARJANI, Hany MOHAMED YEHIA, Wafa M. AL LAWATI, Syed NAJMUL HEJAZ AZMI a Shah ALAM KHAN. Essential oil from the rhizomes of the Saudi and Chinese *Zingiber officinale* cultivars: Comparison of chemical composition, antibacterial and molecular docking studies. *Journal of King Saud University - Science* [online].

- 2020, 32(8), 3343-3350 [cit. 2022-03-26]. ISSN 10183647. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2020.09.020.
- [36] GHAFOR, Kashif, Fahad AL JUHAIMI, Mehmet Musa ÖZCAN, Nurhan USLU, Elfadil E. BABIKER a Isam A. MOHAMED AHMED. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *LWT* [online]. 2020, 126 [cit. 2022-03-26]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2020.109354.
- [37] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. In: . Evropská unie: Úřední věstník Evropské unie, 2009, ročník 2009, číslo 1223. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32009R1223>.
- [38] Nařízení Komise (EU) 2021/1902 ze dne 29. října 2021, kterým se mění přílohy II, III a V nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009, pokud jde o používání některých látek klasifikovaných jako karcinogenní, mutagenní nebo toxické pro reprodukci v kosmetických přípravcích. In: . Evropská unie: Úřední věstník Evropské unie, 2021, ročník 2021, číslo 1902. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32021R1902>.
- [39] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1334/2008 ze dne 16. prosince 2008: o látkách určených k aromatizaci a některých složkách potravin vyznačujících se aromatem pro použití v potravinách nebo na jejich povrchu a o změně nařízení Rady (EHS) č. 1601/91, nařízení (ES) č. 2232/96 a č. 110/2008 a směrnice 2000/13/ES. In: . Evropská unie: Úřední věstník Evropské unie, 2008, ročník 2008, číslo 1334. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32008R1334>.
- [40] Kim S, Chen J, Cheng T, et al. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D1388–D1395. doi:10.1093/nar/gkaa971.
- [41] Alpha-isomethyl ionone (80% min.). The Good Scents Company Information System: Providing information for the Flavor, Fragrance, Food and Cosmetic industries [online]. c1980-2021 [cit. 2022-03-27]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1594721.html#touses>.
- [42] Leerall: lylal (IFF). The Good Scents Company Information System: Providing information for the Flavor, Fragrance, Food and Cosmetic industries [online]. c1980-2021 [cit. 2022-03-27]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1007972.html#tocosmtc>.
- [43] Evernia prunastri lichen: oakmoss. The Good Scents Company Information System: Providing information for the Flavor, Fragrance, Food and Cosmetic industries [online]. c1980-2021 [cit. 2022-03-27]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rs1677701.html#touses>.
- [44] Treemoss absolute: pseudevernia furfuraceae spp. absolute. The Good Scents Company Information System: Providing information for the Flavor, Fragrance, Food and Cosmetic industries [online]. c1980-2021 [cit. 2022-03-27]. Dostupné z: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/ab1051131.html#toeuus>.
- [45] FALAKI, Foujan. Sample Preparation Techniques for Gas Chromatography. KUSCH, Peter, ed. *Gas Chromatography - Derivatization, Sample Preparation, Application* [online]. IntechOpen, 2019, 2019-9-4 [cit. 2021-12-19]. ISBN 978-1-83881-865-4. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.84259
- [46] GREEN, J.D. HEADSPACE ANALYSIS | Static. *Encyclopedia of Analytical Science* [online]. Elsevier, 2005, 2005, s. 229-236 [cit. 2021-12-11]. ISBN 9780123693976. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-369397-7/00254-5

- [47] PERTILE, Eva. Instrumental methods of analysis. Ostrava: VŠB - Technical University of Ostrava, 2017. ISBN 978-80-248-4124-3.
- [48] JANČÁŘOVÁ, Irena a Luděk JANČÁŘ. Analytická chemie. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-7157-647-6.
- [49] MUNTEANU, Irina Georgiana a Constantin APETREI. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, 22(7) [cit. 2022-03-29]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22073380.
- [50] RAZAK, Suhail, Tayyaba AFSAR, Dara AL-DISI, Ali ALMAJWAL, Mohammed ARSHAD, Abdullah A. ALYOUSEF a Rukaya Amin CHOWDARY. GCMS fingerprinting, in vitro pharmacological activities, and in vivo anti-inflammatory and hepatoprotective effect of selected edible herbs from Kashmir valley. *Journal of King Saud University - Science* [online]. 2020, 32(6), 2868-2879 [cit. 2022-04-12]. ISSN 10183647. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2020.07.011.
- [51] HERRERA, Teresa, Yolanda AGUILERA, Miguel REBOLLO-HERNANZ, et al. Teas and herbal infusions as sources of melatonin and other bioactive non-nutrient components. *LWT* [online]. 2018, 89, 65-73 [cit. 2022-04-12]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.10.031.
- [52] POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSÁ a Helena VALENTOVÁ. Sensorická analýza potravin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-7080-329-0.
- [53] LAWLESS, Harry T. a Hildegard HEYMANN. Sensory Evaluation of Food [online]. New York, NY: Springer New York, 2010 [cit. 2022-03-30]. Food Science Text Series. ISBN 978-1-4419-6487-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4419-6488-5.
- [54] DOBHAL, Ankita a Pratima AWASTHI. Formulation of beetroot candy using simple processing techniques and quality evaluation. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* [online]. 2019, 2019, 8, 913-916 [cit. 2022-03-30]. ISSN 2278-4136. Dostupné z: <https://www.semanticscholar.org/paper/Formulation-of-beetroot-candy-using-simple-and-Dobhal-Awasthi/ac8974278c7250d8670e0d8d1d315870291e4ad1#related-papers>.
- [55] ALI, esreen, Samia AL-ASKALANY a Hanan GHANDOR. Evaluation of Sensory, Physicochemical Changes of Marshmallow (Children Candy) by Addition Natural colors. *Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt* [online]. 2017, 50(1), 219-243 [cit. 2022-03-30]. ISSN 2537-0987. Dostupné z: doi:10.21608/bnni.2017.6730.
- [56] ROMO-ZAMARRÓN, Karla Fabiola, Laura Eugenia PÉREZ-CABRERA a Alberto TECANTE. Physicochemical and Sensory Properties of Gummy Candies Enriched with Pineapple and Papaya Peel Powders. *Food and Nutrition Sciences* [online]. 2019, 10(11), 1300-1312 [cit. 2022-03-30]. ISSN 2157-944X. Dostupné z: doi:10.4236/fns.2019.1011094.
- [57] DOLTADE, Mayuri a Ravindranath SAUDAGAR. Analytical Method Development and Validation: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* [online]. India: Vinita Nagar, Society of Pharmaceutical Technocrats, 2019, 15 May 2019, 9(3), 563-570 [cit. 2022-03-31]. ISSN 2250-1177. Dostupné z: doi:10.22270/jddt.v9i3.2774.
- [58] RAO, Tentu Nageswara. Validation of Analytical Methods. STAUFFER, Mark T., ed. Calibration and Validation of Analytical Methods - A Sampling of Current Approaches [online]. InTech, 2018, 2018-04-25 [cit. 2022-03-31]. ISBN 978-1-78923-084-0. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.72087.
- [59] ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology: NOTE FOR GUIDANCE ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY (CPMP/ICH/381/95). In: European Medicines Agency:

- SCIENCE MEDICINE HEALTH [online]. 1. června 1995 [cit. 2022-04-23]. Dostupné z: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures>.
- [60] JCGM. JCGM 100:2008: Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. 2008. Francie: JCGM, 2008. Dostupné také z: [https://www.bipm.org/documents/20126/2071204/JCGM\\_100\\_2008\\_E.pdf/cb0ef43f-baa5-11cf-3f85-4dcd86f77bd6](https://www.bipm.org/documents/20126/2071204/JCGM_100_2008_E.pdf/cb0ef43f-baa5-11cf-3f85-4dcd86f77bd6).
- [61] RYCHETSKÝ, Matěj. Aplikace rostlinného extraktu do nečokoládových cukrovinek. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131319>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.
- [62] BOBOKOVÁ, Alexandra. Zisk a komplexní charakterizace extraktů rýmovníku (*Plectranthus* spp.). Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124109>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.
- [63] HORWITZ, William a Richard ALBERT. The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* [online]. 2006, 89(4), 1095-1109 [cit. 2022-04-24]. ISSN 1060-3271. Dostupné z: doi:10.1093/jaoac/89.4.1095.
- [64] ČSN EN ISO 5495 (560032). *Senzorická analýza - Metodologie - Párová porovnávací zkouška*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2009.
- [65] BABUSHOK, V. I., P. J. LINSTROM a I. G. ZENKEVICH. Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* [online]. 2011, 40(4) [cit. 2022-04-18]. ISSN 0047-2689. Dostupné z: doi:10.1063/1.3653552.
- [66] ALI, Ammar Mohammed Ahmed, Mawahib ElAmin Mohamed EL-NOUR a Sakina Mohamed YAGI. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) rhizome, callus and callus treated with some elicitors. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* [online]. 2018, 16(2), 677-682 [cit. 2022-04-20]. ISSN 1687157X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jgeb.2018.03.003.
- [67] LIN, Jau-Tien, Yi-Chen CHEN, Ying-Chung LEE, Chien-Wei ROLIS HOU, Fong-Lin CHEN a Deng-Jye YANG. Antioxidant, anti-proliferative and cyclooxygenase-2 inhibitory activities of ethanolic extracts from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *LWT* [online]. 2012, 49(1), 1-7 [cit. 2022-04-20]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2012.04.009.
- [68] BERECHET, Mariana Daniela, Demetra SIMION, Maria STANCA, Cosmin Andrei ALEXE, Rodica Roxana CONSTANTINESCU, Maria RAPA a Andreea TURCANU. Antibacterial and antioxidant activities of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) essential oil. In: *Proceedings of the 8th International Conference on Advanced Materials and Systems* [online]. INCDTP - Leather and Footwear Research Institute (ICPI), Bucharest, Romania, 2020, 2020-11-30, s. 121-126 [cit. 2022-04-20]. Dostupné z: doi:10.24264/icams-2020.II.2.
- [69] OSAE, Richard, Maurice Tibiru APALIYA, Emmanuel KWAW, Michelle T.R. CHISEPO, Otu Phyllis Naa YARLEY, Eric Aforo ANTIRI a Raphael N. ALOLGA. Drying techniques affect the quality and essential oil composition of Ghanaian ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Industrial Crops and Products* [online]. 2021, 172 [cit. 2022-04-20]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2021.114048.
- [70] WILLIAMS, Antony J., Christopher M. GRULKE, Jeff EDWARDS, et al. The CompTox Chemistry Dashboard: a community data resource for environmental chemistry. *Journal of Cheminformatics* [online]. 2017, 9(1) [cit. 2022-04-24]. ISSN 1758-2946. Dostupné z: doi:10.1186/s13321-017-0247-6.

- [71] Online Edition: "Specifications for Flavourings": alpha-Hexylcinnamaldehyde. In: Food and Agriculture Organization of the United Nations: Food safety and quality [online]. c2022 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-flav/details/en/c/566/>.
- [72] A-Amylcinnamyl alcohol. In: Merck [online]. Německo, c2022 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sial/87894>.
- [73] APAK, Reşat, Mustafa ÖZYÜREK, Kubilay GÜÇLÜ a Esra ÇAPANOĞLU. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2016, 64(5), 997-1027 [cit. 2022-04-26]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.5b04739.



## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAL	Aromaticky aktivní látky
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
ANOVA	Analýza rozptylu ( <i>Analysis of Variance</i> )
CAS	Registrační číslo ( <i>Chemical Abstracts Service</i> )
CUPRAC	<i>Cupric Reducing Antioxidant Capacity</i>
ČSN	Česká technická norma
DPPH	2,2-di(4-tert-oktylfenyl)-1-pikrylhydrazyl
EN	Evropská norma
ERP	elektronová paramagnetická rezonance ( <i>Electron Paramagnetic Resonance</i> )
EU	Evropská unie
FEMA	Asociace výrobců aromat a extraktů ( <i>Flavor and Extract Manufacturers Association</i> )
FCH VUT	Fakulta chemická Vysokého učení technického
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Potential</i>
GAE	Ekvivalent kyseliny gallové ( <i>Gallic Acid Equivalent</i> )
GC	Plynový chromatograf ( <i>Gas Chromatography</i> )
GC-FID	Plynová chromatografie s plamenovou ionizační detekcí ( <i>Gas Chromatography with Flame Ionization Detection</i> )
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí ( <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> )
HAT	Přenos vodíkového atomu ( <i>Hydrogen Atom Transfer</i> )
HM	Vysokoesterifikované ( <i>High Methoxyl</i> )
HPLC	Vysokoúčinný kapalinový chromatograf ( <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )
HS	Prostor nad vzorkem ( <i>Head-Space</i> )
HS-SPME	Mikroextrakce tuhou fází nad vzorkem ( <i>Headspace Solid Phase Microextraction</i> )
HS-SPME-GC-MS	Mikroextrakce tuhou fází nad vzorkem ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí ( <i>Headspace Solid Phase Microextraction coupled to Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> )
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci ( <i>International Organization for Standardization</i> )
LM	Nízkoesterifikované ( <i>Low Methoxyl</i> )
LOD	Limit detekce ( <i>Limit of Detection</i> )
LOQ	Limit stanovitelnosti ( <i>Limit of quantification</i> )
MOL	Meduňka lékařská ( <i>Melissa officinalis</i> )
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorption Capacity</i>
RI	Retenční index
RI <sub>lit</sub>	Retenční index z literatury
R <sub>match</sub>	Faktor shodnosti
RSD	Relativní směrodatná odchylka

RSD <sub>H</sub>	Relativní směrodatná odchylka určená Horwitzovo rovnicí
R <sub>T</sub>	Retenční čas ( <i>Retention Time</i> )
SET	Přenos nepárového elektronu ( <i>Single Electron Transfer</i> )
SPME	Mikroextrakce tuhou fází ( <i>Solid Phase Microextraction</i> )
TE	Ekvivalent troloxu ( <i>Trolox Equivalent</i> )
TEAC	Ekvivalent troloxu antioxidační aktivity ( <i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i> )
TPC	Celkový obsah fenolických látek ( <i>Total Phenolic Content</i> )
T <sub>v</sub>	Teplota varu
VUT	Vysoké učení technické
ZO	Zázvor lékařský ( <i>Zingiber officinale</i> )

## 8 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1 Formulář pro sensorickou analýzu – Optimalizace přídavku bylinného extraktu do želé cukrovinek
- Příloha 2 Formulář pro sensorickou analýzu – Optimalizace přídavku bylinného prášku do želé cukrovinek
- Příloha 3 Formulář pro sensorickou analýzu – Srovnání vyrobených a komerčních cukrovinek
- Příloha 4 Chromatogram standardů těkavých alergenů, identifikace viz Tab. 24
- Příloha 5 Chromatogram vyrobeného meduňkového vzorku, identifikace viz Tab. 26
- Příloha 6 Chromatogram komerčního meduňkového vzorku, identifikace viz Tab. 26
- Příloha 7 Chromatogram vyrobeného zázvorového vzorku, identifikace viz Tab. 27
- Příloha 8 Chromatogram komerčního zázvorového vzorku 1, identifikace viz Tab. 27
- Příloha 9 Chromatogram komerčního zázvorového vzorku 2, identifikace viz Tab. 27

## 9 PŘÍLOHY

**Příloha 1:** Formulář pro senzoryckou analýzu – Optimalizace přídavku bylinného extraktu do želé cukrovinek

### DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK

Vážení hodnotitelé, zhodnoťte, prosím, předložené vzorky želatinových bonbonů.

Datum: .....

kuřák/nekuřák

muž/žena

**Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?**

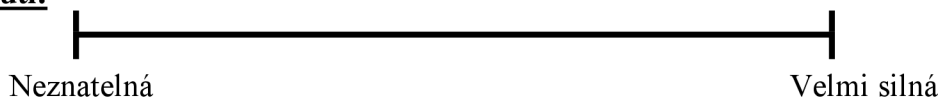
- a) želatinové bonbony mám velmi rád/a
- b) želatinové bonbony nemám příliš rád/a
- c) želatinové bonbony nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

Zhodnoťte jednotlivé vzorky zvlášť nezávisle na sobě a poznačte všechny do jedné stupnice, u každé charakteristiky, s označením kódu vzorku. Zhodnoťte vždy celý jeden set a až poté druhý.

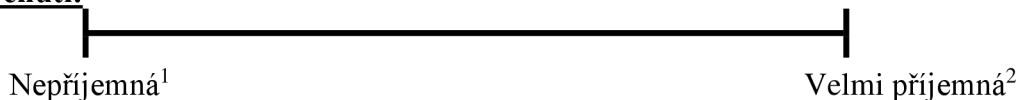
#### SET 1 – MEDUŇKA

I. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

**Intenzita chuti:**



**Příjemnost chuti:**

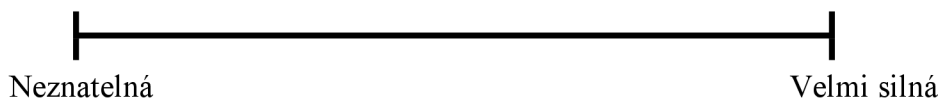


Pozn.: 1 – nepříjemná, netypická, výrazně negativní přípach

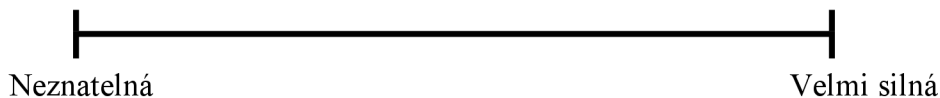
2 – výrazná, charakteristická, dobře identifikovatelná

II. Profilový test vybraných chutí

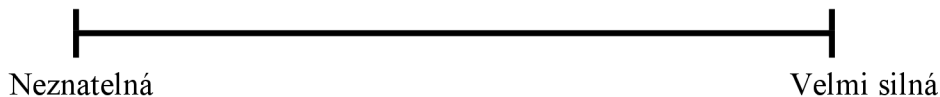
**Sladká:**



**Kyselá:**



**Bylinná:**



III. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku (pořadová zkouška)

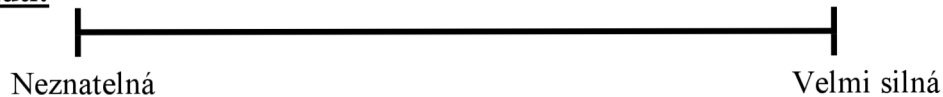
Seřad'te vzorky dle celkové přijatelnosti, berte v úvahu výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 4 – nejméně přijatelný)

1			4

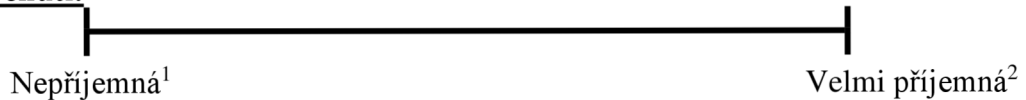
#### SET 2 – ZÁZVOR

I. Chut' (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

**Intenzita chuti:**



**Příjemnost chuti:**

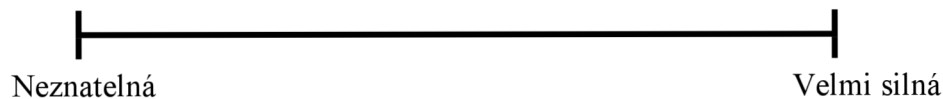


Pozn.: 1 – nepříjemná, netypická, výrazně negativní přípach

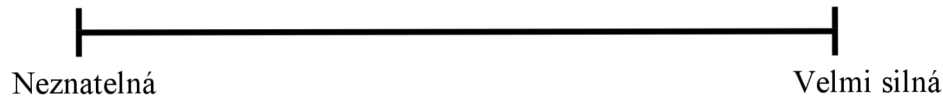
2 – výrazná, charakteristická, dobře identifikovatelná

II. Profilový test vybraných chutí

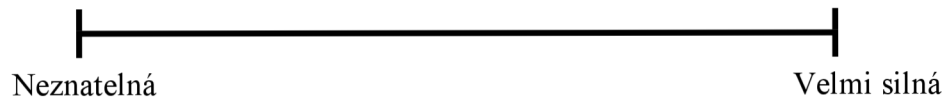
**Sladká:**



**Kyselá:**



**Bylinná:**



III. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku (pořadová zkouška)

Seřaďte vzorky dle celkové přijatelnosti, berte v úvahu výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 4 – nejméně přijatelný)

1			4

Děkuji za vyplnění formuláře! Případné připomínky napište zde:

**Příloha 2:** Formulář pro sensorickou analýzu – Optimalizace přídavku bylinného prášku do želé cukrovinek

## DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK

Vážení hodnotitelé, zhodnoťte, prosím, předložené vzorky želatinových bonbonů.

Datum: .....

kuřák/nekuřák

muž/žena

**Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?**

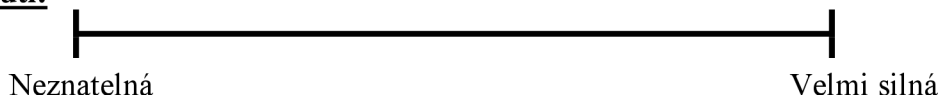
- a) želatinové bonbony mám velmi rád/a
- b) želatinové bonbony nemám příliš rád/a
- c) želatinové bonbony nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

Zhodnoťte jednotlivé vzorky zvlášť nezávisle na sobě a poznačte všechny do jedné stupnice, u každé charakteristiky, s označením kódu vzorku. Zhodnoťte vždy celý jeden set a až poté druhý.

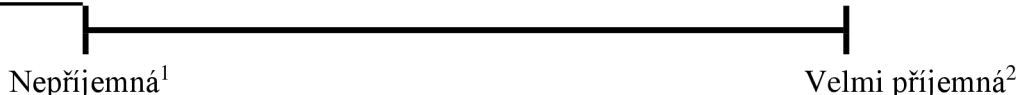
### SET 1 – MEDUŇKA

I. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

**Intenzita chuti:**



**Příjemnost chuti:**

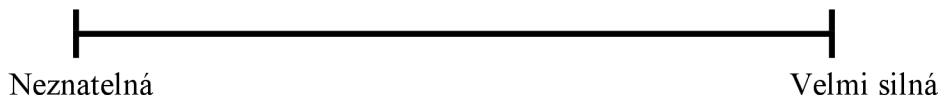


Pozn.: 1 – nepříjemná, netypická, výrazně negativní přípach

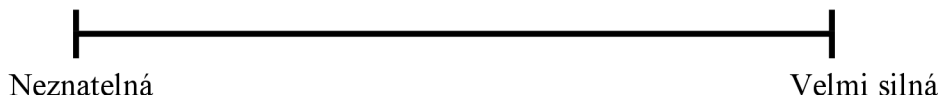
2 – výrazná, charakteristická, dobře identifikovatelná

II. Profilový test vybraných chutí

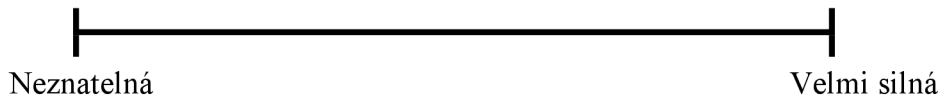
**Sladká:**



**Kyselá:**



**Bylinná:**



III. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku (pořadová zkouška)

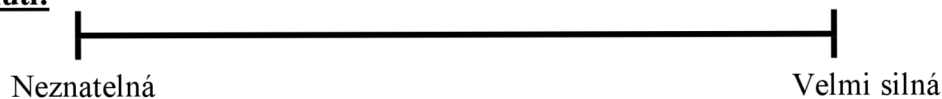
Seřaďte vzorky dle celkové přijatelnosti, berte v úvahu výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

1		3

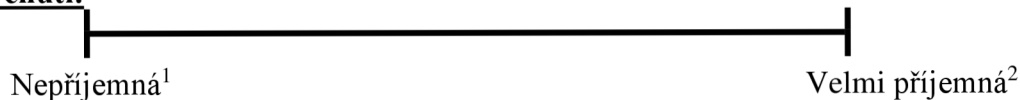
## SET 2 – ZÁZVOR

I. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

### Intenzita chuti:



### Příjemnost chuti:

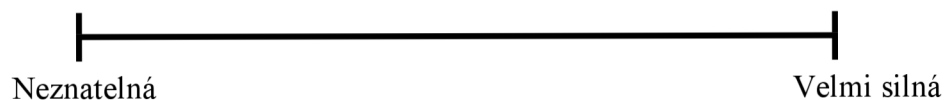


Pozn.: 1 – nepříjemná, netypická, výrazně negativní přípach

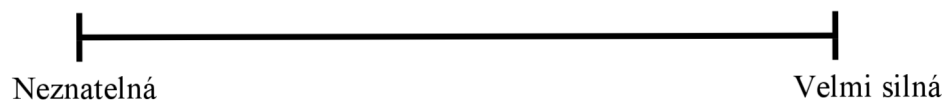
2 – výrazná, charakteristická, dobře identifikovatelná

II. Profilový test vybraných chutí

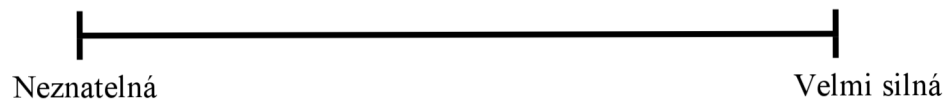
### Sladká:



### Kyselá:



### Bylinná:



III. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku (pořadová zkouška)

Seřaďte vzorky dle celkové přijatelnosti, berte v úvahu výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

1		3

Děkuji za vyplnění formuláře! Případné připomínky napište zde:

**Příloha 3: Formulář pro senzorickou analýzu – Srovnání vyrobených a komerčních cukrovinek**  
**DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH**  
**CUKROVINEK**

Vážení hodnotitelé, zhodnoťte, prosím, předložené vzorky želatinových bonbonů.

Datum: ..... kuřák/nekuřák muž/žena

**Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?**

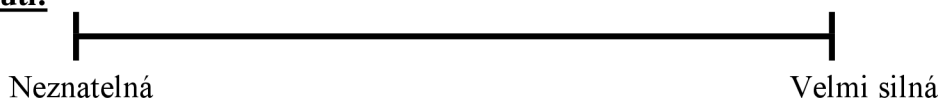
- d) želatinové bonbony mám velmi rád/a
- e) želatinové bonbony nemám příliš rád/a
- f) želatinové bonbony nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

Zhodnoťte jednotlivé vzorky zvlášť nezávisle na sobě a poznačte všechny do jedné stupnice, u každé charakteristiky, s označením kódu vzorku. Zhodnoťte vždy celý jeden set a až poté druhý.

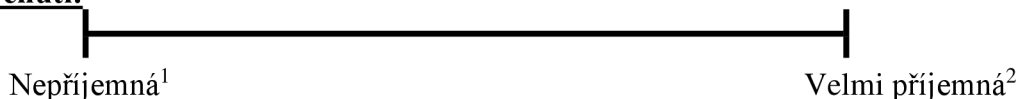
**SET 1 – MEDUŇKA**

I. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

**Intenzita chuti:**



**Příjemnost chuti:**



Pozn.: 1 – nepříjemná, netypická, výrazně negativní přípach

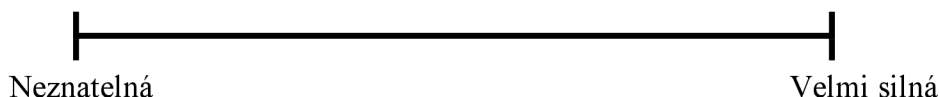
2 – výrazná, charakteristická, dobře identifikovatelná

Heslovitě popište chuť, kterou cítíte

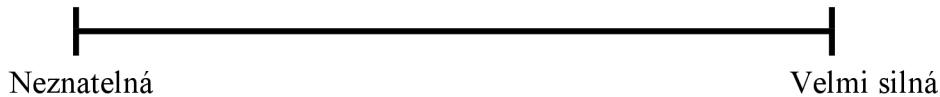
Kód vzorku	Popis chuti
A45	
E82	

II. Profilový test vybraných chutí

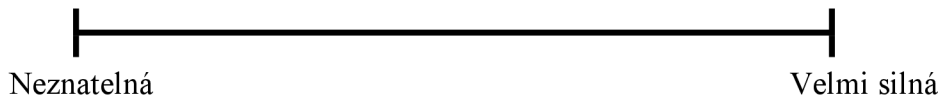
**Sladká:**



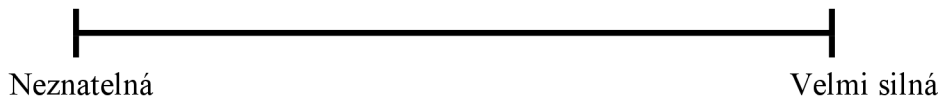
**Kyselá:**



**Bylinná:**



**Jiná:**



V případě pocitu jiné chuti popište: .....

III. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku (párová porovnávací zkouška)

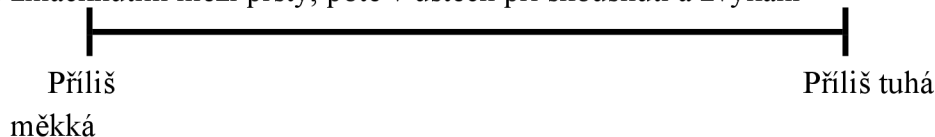
Napište kód vzorku, který preferujete, berte v úvahu výše zmíněné vlastnosti:



## SET 2 – ZÁZVOR

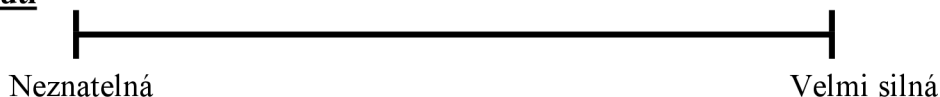
### I. Konzistence (textura)

Ohodnoťte zmáčknutím mezi prsty, poté v ústech při skousnutí a žvýkání

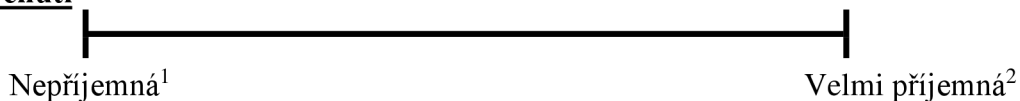


### II. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

#### Intenzita chuti



#### Příjemnost chuti



Pozn.: 1 – nepříjemná, netypická, výrazně negativní přípach

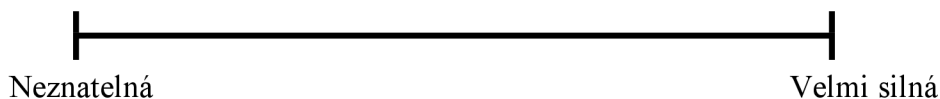
2 – výrazná, charakteristická, dobře identifikovatelná

Heslovitě popište chuť, kterou cítíte

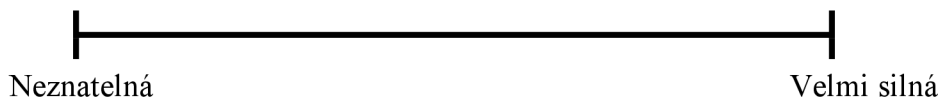
Kód vzorku	Popis chuti
L48	
X67	
C31	

### III. Profilový test vybraných chutí

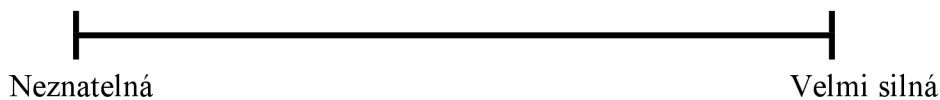
#### Sladká:



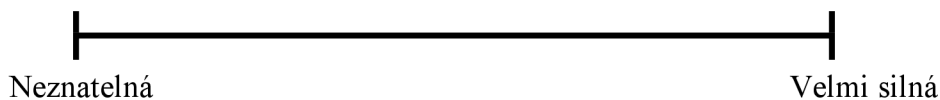
#### Kyselá:



#### Bylinná:



#### Jiná:



V případě pocitu jiné chuti popište: .....

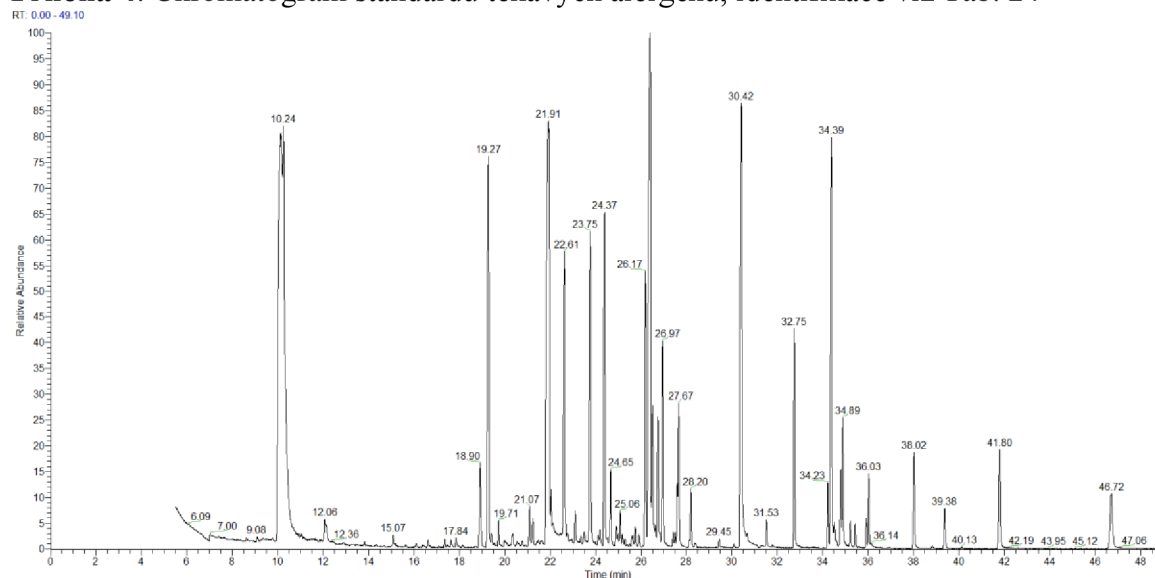
### IV. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku (pořadová zkouška)

Seřaďte vzorky dle celkové přijatelnosti, berte v úvahu výše zmíněné vlastnosti. (1 – nejvíce přijatelný, 3 – nejméně přijatelný)

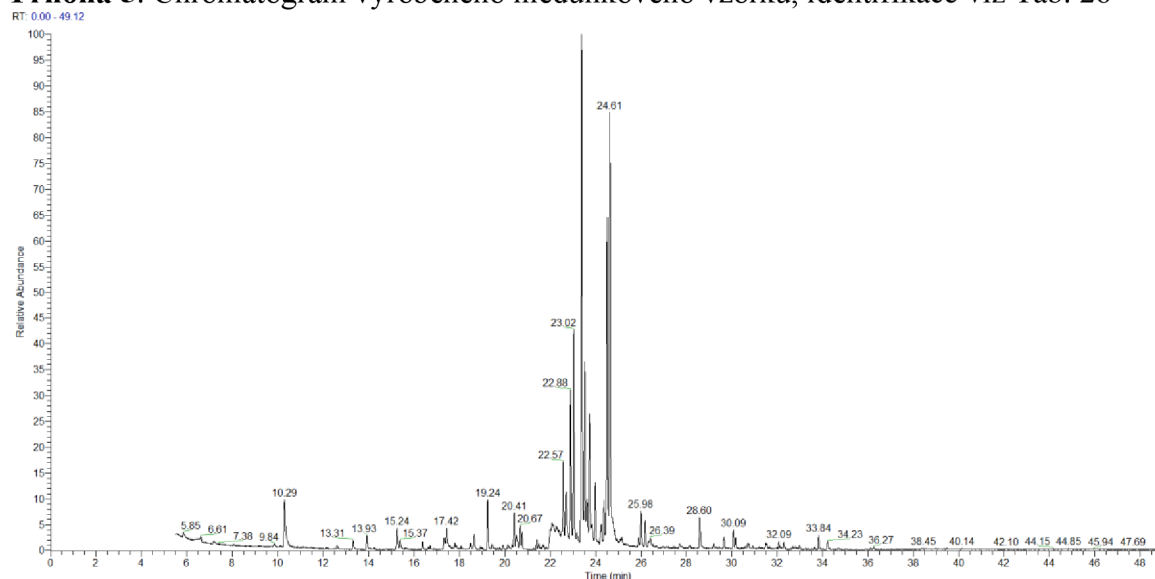
1		3

Děkuji za vyplnění formuláře! Případné připomínky napište zde:

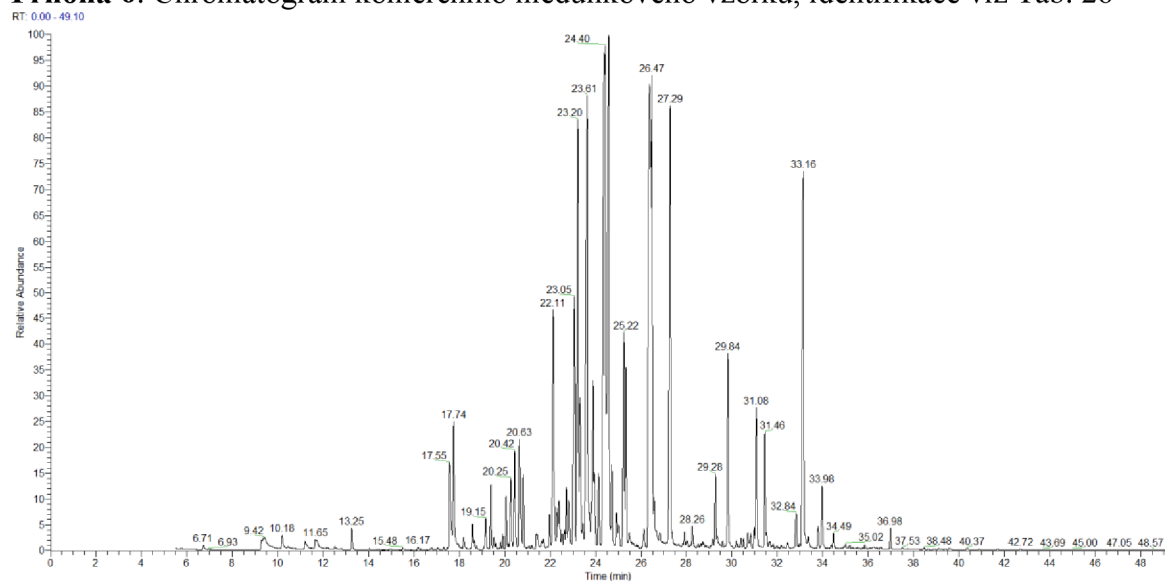
#### Příloha 4: Chromatogram standardů těkavých alergenů, identifikace viz Tab. 24



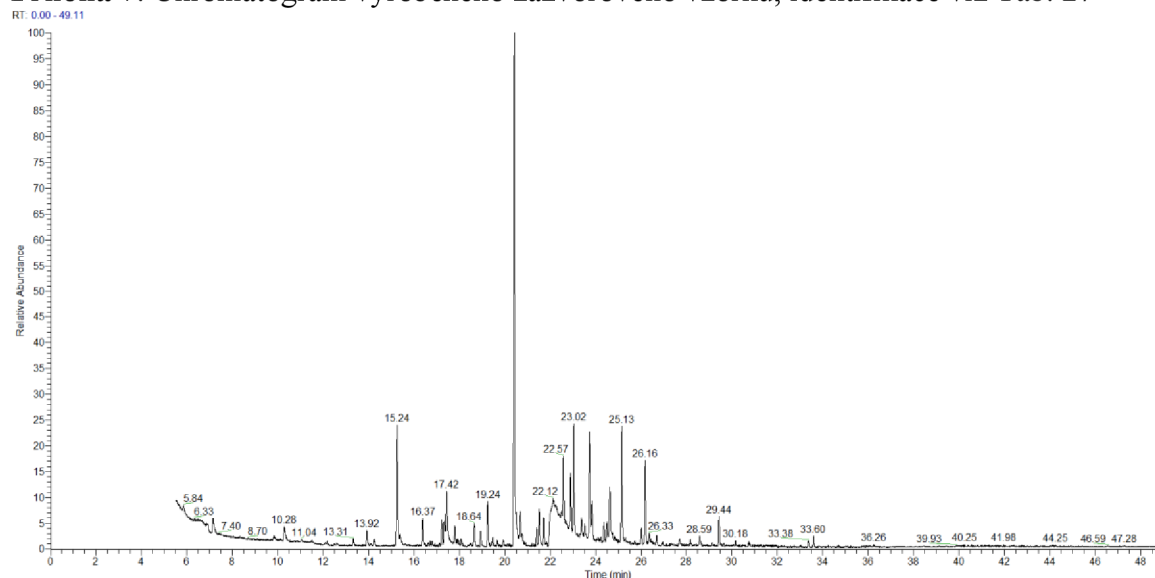
#### Příloha 5: Chromatogram vyrobeného meduňkového vzorku, identifikace viz Tab. 26



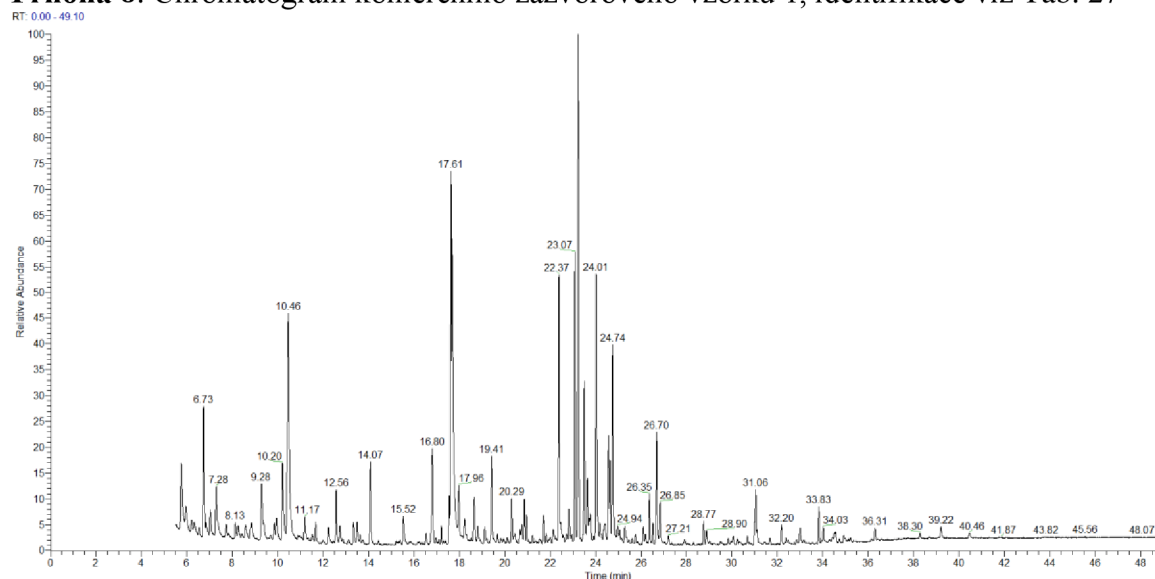
#### Příloha 6: Chromatogram komerčního meduňkového vzorku, identifikace viz Tab. 26



### Příloha 7: Chromatogram vyrobeného zázvorového vzorku, identifikace viz Tab. 27



### Příloha 8: Chromatogram komerčního zázvorového vzorku 1, identifikace viz Tab. 27



### Příloha 9: Chromatogram komerčního zázvorového vzorku 2, identifikace viz Tab. 27

