



**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

**KOMBINOVANÝ NÁPOJ NA BÁZI VÍNA A OVOCNÉ  
ŠŤÁVY**

COMBINED DRINK FROM WINE AND JUICE

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

Bc. Romana Štýblová

**VEDOUcí PRÁCE**

SUPERVISOR

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

**BRNO 2017**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1118/2016  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Bc. Romana Štýblová**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.**  
Akademický rok: 2016/17

### Název diplomové práce:

Kombinovaný nápoj na bázi vína a ovocné šťávy

### Zadání diplomové práce:

Teoretická část:

- 1) Výroba vína
- 2) Definice ovocné šťávy
- 3) Senzorická analýza vína a šťáv
- 4) Přehled českého trhu s nízkoalkoholickými nápoji

Experimentální část:

- 1) Definování vlastností vína použitelného pro přípravu kombinovaného nápoje
- 2) Příprava dalších variant kombinovaného nápoje
- 3) Přídavek přírodních aditivních složek
- 4) Zpracování výsledků formou diskuse

### Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

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

## **Abstrakt:**

Tato diplomová práce se zabývá přípravou kombinovaných nápojů na bázi vína a ovocné šťávy.

Základem připravovaného nápoje je voda a bílé víno. Jako ovocná složka byla zvolena aronie, resp. aróniový koncentrát. Nápoj byl doslazen zahuštěnou hroznovou šťávou. Pro stabilizaci nápoje a zvýraznění jeho chuti byla přidána kyselina citrónová a vitamin C. Dále byly připraveny další 3 varianty nápoje s atraktivními příchutěmi.

Nejlepší poměr složek nápoje byl testován s využitím sensorické analýzy. Touto metodou byl vybírán vhodný druh bílého vína jako základu nápoje, množství přidané kyseliny citrónové a množství vitamínu C. Byla rovněž sensoricky zhodnocena atraktivita nápojů s příchutěmi a bez nich.

V jednotlivých složkách nápoje stejně jako ve finálním nápoji byly stanoveny vybrané chemické charakteristiky: titrační kyselost, redukující cukry, obsah fenolických látek a obsah anthokyanových barviv.

## **Abstract**

This diploma thesis deals with the preparation of combined drinks based on the wine and fruit concentrate.

The basis of this drink is water and white wine. As a fruit component was chosen aronia concentrate. The drink was sweetened with thickened grape juice. The citric acid and ascorbic acid were added for stabilization of the taste of the drink and its enhancement. There were prepared three more variants with attractive tastes as well.

The best proportion of all components was tested by using sensory analysis. By this method was chosen a suitable kind of white wine and amount of citric and ascorbic acid. The attractiveness of drinks with flavour was evaluated with this method too.

In the individual parts of the drink as well as in the final drink was established chosen chemical characteristics. These were: titratable acids, reducing sugars, total phenolics and total anthocyanins.

## **Klíčová slova**

nízkoalkoholické nápoje; sensorická analýza; ovocná šťáva, víno, HPLC, UV–VIS spektrometrie

## **Keywords**

low-alcohol drinks, sensory analysis; fruit drinks; wine; HPLC, UV–VIS spectrometry

ŠTÝBLOVÁ, R. *Kombinovaný nápoj na bázi vína a ovocné šťávy*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 77 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D..

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
Podpis studenta

*Poděkování:  
Děkuji vedoucí diplomové práce, RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, vstřícnost, trpělivost a čas, který mi věnovala při vypracování této diplomové práce*

## OBSAH:

Úvod .....	8
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	9
1.1 Víno .....	9
1.1.1 Sklizeň hroznů .....	9
1.1.2 Příprava hroznů před lisováním .....	9
1.1.3 Lisování .....	10
1.1.4 Úprava moštu .....	10
1.1.5 Kvašení moštu .....	11
1.1.6 Ošetřování a školení vína .....	12
1.1.7 Zrání vín .....	12
1.1.8 Klasifikace révových odrůd a vín .....	12
1.1.9 Základní složky vína .....	14
1.1.9.1 Alkoholy .....	14
1.1.9.2 Sacharidy .....	14
1.1.9.3 Kyseliny .....	15
1.1.9.4 Fenolické sloučeniny .....	15
1.2 Ovocná šťáva .....	16
1.2.1 Výroba ovocných šťáv .....	16
1.2.1.1 Předběžné technologické operace .....	16
1.2.1.2 Výroba čirých šťáv .....	18
1.2.1.3 Výroba šťavních koncentrátů .....	18
1.3 Přidatné látky .....	19
1.3.1 Podmínky pro použití přídatných látek .....	20
1.3.2 Dělení přídatných látek .....	21
1.3.2.1 Antioxidanty .....	21
1.4 Senzorická analýza vína a šťáv .....	22
1.4.1 Smyslové vnímání .....	22
1.4.1.1 Smysl chuťový .....	22
1.4.1.2 Smysl čichový .....	23
1.4.1.3 Zrakový smysl .....	23
1.4.2 Požadavky na sensorické hodnocení .....	24
1.4.2.1 Vybavení laboratoře .....	24

1.5	Přehled českého trhu s nízkoalkoholickými nápoji .....	25
1.6	Použité analytické metody .....	25
1.6.1	Spektrometrické metody .....	25
1.6.1.1	Molekulová absorpční spektrometrie v ultrafialové a viditelné oblasti (UV–VIS spektrometrie) .....	26
1.6.1.2	Základní součásti UV–VIS spektrometru .....	27
1.6.2	Separční metody .....	28
1.6.2.1	HPLC (vysokoučinná kapalinová chromatografie) .....	29
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	31
2.1	Použité chemikálie.....	31
2.2	Přístroje a zařízení .....	32
2.3	Chemické metody .....	32
2.3.1	Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda .....	32
2.3.2	Stanovení veškerých titrovatelných kyselin potenciometrickou titrací.....	33
2.3.3	Stanovení fenolických kyselin pomocí Folin–Ciocalteuova činidla .....	33
2.3.4	Stanovení anthokyanových barviv pH diferenciální metodou .....	34
2.4	Chromatografické stanovení jednotlivých sacharidů .....	35
2.4.1	Příprava roztoků pro kalibrační závislost.....	35
2.4.2	Příprava vzorků .....	35
2.4.3	Podmínky chromatografické analýzy .....	35
2.5	Pracovní postupy pro míchání kombinovaných nápojů .....	36
2.6	Použité komerční nápoje .....	37
2.7	Senzorická analýza nápojů .....	38
3	Výsledky a diskuze .....	39
3.1	Stanovení vybraných chemických vlastností u jednotlivých složek kombinovaného nápoje	39
3.1.1	Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda .....	39
3.1.2	Stanovení titrační kyselosti .....	40
3.1.3	Stanovení fenolických kyselin pomocí Folin–Ciocalteuova činidla .....	41
3.1.4	Stanovení anthokyanových barviv v analyzovaných vzorcích .....	42
3.1.5	Stanovení cukrů pomocí HPLC.....	43
3.2	Senzorické hodnocení kombinovaných nápojů .....	44
3.2.1	Výběr vhodného vína .....	44
3.2.2	Senzorické hodnocení přídatných látek.....	50

3.2.3	Senzorické hodnocení nejlepšího kombinovaného nápoje.....	54
3.2.4	Hodnocení ovocné složky nápoje.....	59
4	Závěr .....	64
5	Seznam použitých zdrojů .....	66
6	Seznam použitých zkratek a symbolů.....	68
7	Seznam příloh .....	69
8	Přílohy.....	70
8.1	Ukázka Dotazníku pro sensorickou analýzu kombinovaných nápojů.....	70
8.2	Příklad surových dat a jejich zpracování .....	72
8.3	Ukázka chromatogramů.....	73
8.4	Kalibrační křivka fruktózy.....	75
8.5	Kombinované nápoje .....	76

## Úvod

V dnešní době jsou stále více oblíbené nízkoalkoholické nápoje zejména u mladistvých a u věkové skupiny 18–25 let. Mladí lidé kladou také stále větší důraz na to, aby to, co pijí, bylo nejen chutné, ale i přínosné pro zdraví. Není jednoduché najít na trhu nápoj, který by splňoval tato kritéria – byl by nízkoalkoholický a aspoň trochu zdraví prospěšný. Nápoje, které jsou nabízeny, obsahují převážně mnoho cukrů, což není v souladu se zdravou výživou. Dále jsou tyto nápoje dobarvovány, aby měly přitažlivou barvu a jsou aromatizovány, aby pěkně voněly.

Z nízkoalkoholických nápojů lze v obchodních řetězcích koupit pouze kombinovaný nápoj, jehož základem je pivo. Obsah alkoholu do šesti procent mají také oblíbené cidery. Jejich základem je nejčastěji zkvašená jablečná šťáva. Nápoj podobný vinnému stříku na trhu zastupuje Winka z vína. Avšak nápoj z vína a ovocné šťávy na trhu dosud chybí.

Cílem této diplomové práce je připravit různé varianty kombinovaného nápoje na bázi vína a ovocné složky tak, aby splňoval kritéria uvedená výše.

Práce byla podpořena vinařským podnikem z Velkých Bílovic.



# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Víno

Víno je jedním z nejdéle známých alkoholických nápojů světa. Jeho výroba je zachycena již v textech starověké Mezopotámie a starého Egypta. Na území České republiky je pěstování révy vinné známé necelé dva tisíce let. K rozšíření vinařství v široké míře došlo za vlády Karla IV. V dnešní době se vinařství řadí mezi moderní potravinářská odvětví s převládající velkovýrobou. V posledních letech nelze opomenout výrobu vína u malovinařů[1].

Pěstování révy vinné je podmíněno vhodnými klimatickými a geologickými podmínkami. K nejvýznamnějším vinařským zemím na světě patří Itálie, Francie, Španělsko a Portugalsko v Evropě, Argentina, Chile a USA v zámoří [2].

Základní surovinou pro výrobu vína jsou plody révy vinné – hrozny. Přestože víno nepatří mezi základní potraviny, obsahuje látky nezbytné pro výživu člověka, jako sacharidy, bílkoviny, mastné kyseliny, vitaminy a minerální látky.

Mezi základní operace při výrobě bílého vína patří sklizeň hroznů, příprava hroznů před lisováním, samotné lisování, úprava révového moštu, plnění moštu do sudů, kvašení moštu, ošetřování a školení vína a zrání vína [2].

### 1.1.1 Sklizeň hroznů

Sklizeň hroznů patří mezi jedny z nejdůležitějších operací při výrobě vína. Podle toho, jak moc kvalitní hrozny se sklídí, tak kvalitní víno se potom vyrobí. Tato operace probíhá zhruba od konce srpna do konce října. Doba sklizně záleží na tom, jaká odrůda se sklízí a také na tom, jaké je počasí v letním období. Hrozny se mohou sbírat tehdy, když jsou zralé. Vnější známkou zralosti hroznů je jejich zabarvení, dostatečné změknutí bobulí a částečné zdřevnatění hroznové stopky. Spolehlivějším znakem pro posouzení zralosti je obsah cukru a kyselin. Hrozny se mají sbírat za sucha. Musí se dávat pozor také na to, aby se hrozny při sběru moc nepomačkaly. Může tím dojít k oxidativnímu hnědnutí hroznů. Na sběr hroznů by se měly využívat nádoby o objemu nejvýše 15 l. Jsou to nádoby, u kterých nehrozí velké riziko pomačkání hroznů [3].

### 1.1.2 Příprava hroznů před lisováním

Mezi přípravné operace hroznů před lisováním se řadí drcení a odzrňování. Při výrobě červených vín je navíc přidávána operace nakvašení rmutu. Zpracování hroznů by mělo začít ihned po sběru. Tím se zabraňuje zapaření hroznů a množení nežádoucích mikroorganismů.

Třídění hroznů je oddělování zdravých hroznů od poškozených (např. napadených šedou hnilobou, naklovaných ptactvem). Třídění bobulí se provádí nad nádobou na špatné hrozny pomocí nůžek [4].

Pro dosažení co největšího výtěžku moštu, je třeba bobule nejprve rozdrtit, aby se uvolnilo co nejvíce šťávy. Drcení hroznů se provádí pomocí elektrických mlýnků na hrozny.

V mlýncích prochází hrozny mezi dvěma rýhovanými válci, které se točí proti sobě. U těchto mlýnků se oddělí třapiny a rozdrčené bobule [1].

### **1.1.3 Lisování**

Lisováním se oddělí mošt od slupek. Tato operace probíhá v lisech různé velikosti. První mošt, který odtéká dříve, než začne samotné lisování, se nazývá samotok. Takový mošt má nejlepší jakost. Ze 100 kg hroznů se získá 90 l rmutu (pomleté a odzrněné hrozny), z toho asi 70 l moštu (68–75 %). Z celkového výtěžku moštu připadá 60 % na samotok, 26 % pochází z prvního lisování, 10 % z druhého lisování a 4 % z třetího lisování. Pevné vylisované zbytky hmoty bobulí se nazývají matoliny [5].

### **1.1.4 Úprava moštu**

K dosažení optimální kvality moštu, zaručující hladký průběh kvašení a vysokou jakost vyrobeného vína, je třeba mošt získaný lisováním dodatečně upravovat. V praxi se provádí odkalování, provzdušňování, síření, odkyselování, okyselování a úprava cukernatosti moštu [5].

#### **Odkalování moštu**

Vylisovaný mošt obsahuje různé kalící látky, které je nutné odstranit ještě před kvašením. Zvláště důležité je to u moštů vyrobených ze silně znečištěných hroznů. Odkalování se může provádět buď chemickým nebo mechanickým způsobem. Chemický způsob zahrnuje plnění moštů do zasiřených sudů nebo se v nich zasyří jednou tabletou pyrosiřičitanu draselného na 100 l. Nechá se 12–24 hodin usadit a pak se stočí do jiného, nesířeného sudu. Přetočením moštu do čisté nádoby se odstraní kal. Zasiření obecně oddálí proces kvašení o jeden den. Proto se doporučuje následně provést provzdušnění moštu a přidání čistých kulturních kvasinek. Mezi mechanické operace odkalení se řadí odstředění nebo filtrace [5].

#### **Provzdušňování**

Provzdušňování se provádí u zdravých moštů skladovaných v nepropustných tancích a nádržích. Prosycení moštu kyslíkem je nezbytným předpokladem dobré činnosti kvasinek [6].

#### **Síření**

Tato operace slouží k ochraně moštů před bakteriální a plísňovou kontaminací, před oxidací a před jinými vadami. Síří se oxidem siřičitým dávkou 25–50 mg.l<sup>-1</sup>. Oxid siřičitý působí zhoubně na plísně a bakterie, kdežto kvasinky vinné jej snášejí do určitého množství dobře. Další pozitivní vlastností oxidu siřičitého je to, že snižuje barvu vín a zamezuje hnědnutí bílých vín. Brání také předčasnému vzniku stařiny. S aldehydy vytváří SO<sub>2</sub> sloučeniny mající příjemný buket vína. Doporučuje se sířit vícekrát, avšak mírněji [5].

## Odkyselování

Provádí se pomocí čistého uhličitanu vápenatého. Slouží ke snížení kyselosti moštů s nízkým obsahem cukrů. Jelikož se kyseliny odbourávají i během kvašení, je výhodné provádět odkyselování až po vykvašení [5].

## Okyselování

Okyselování se provádí v letech s nízkým obsahem kyselin v moštu. Přidává se kyselina vinná v množství 1–2 g.l<sup>-1</sup> tak, aby celková kyselost byla 7–8 g.l<sup>-1</sup> [1].

## Úprava cukernatosti

Tento proces se provádí pouze pokud v daném roce byly nepříznivé klimatické podmínky, kdy hrozny dostatečně nevyzrály a mošty nedosáhly předepsané cukernatosti. Přislazování se děje řepným cukrem. Přidáním 1,25 kg cukru do 100 kg moštu zvýšíme cukernatost moštu o jeden stupeň klosterneuburgského moštoměru. Bílý mošt se doslazuje na 23 °NM, cukr se rozpouští v menším množství moštu za mírného zahřívání [2].

### 1.1.5 Kvašení moštu

Pro kvašení moštu se používají kvasinky rodu *Sacharomyces cerevisiae*. Stále více se používají i ve formě aktivovaných sušených vlnařských kvasinek (ASVK). Kvašení může probíhat buďto spontánně nebo řízeně. Dříve se spíše využívalo spontánního kvašení způsobené tzv. divokými kvasinkami ulpělými na povrchu hroznů. V dnešní době se více využívá řízeného kvašení. Kvašení probíhající ve vertikálních či horizontálních tancích má 3 fáze – začátek kvašení, bouřlivé kvašení a dokvašování [2].

Začátek kvašení je charakteristický pozvolným rozmnožováním kvasinek a pomalým začátkem prokvašování cukrů moštu a trvá 2–3 dny [2].

Bouřlivé kvašení nastává třetí až čtvrtý den a projevuje se vývinem tepla, zvýšením teploty až nad 25 °C a uvolňováním oxidu uhličitého, který strhává i aromatické a těkavé buketní látky. V této fázi kvašení musí regulovat teplota v rozmezí 15–18 °C a u chladnomilných kvasinek v rozmezí 10–12 °C. Bouřlivé kvašení trvá několik dnů až týdnů. Kvasí-li se při nižších teplotách, trvá kvašení déle, ale vyrobená vína jsou kvalitnější [5].

Dokvašování je poslední fáze kvašení, která nastává po poklesu obsahu cukru na 2–5 g.l<sup>-1</sup> a trvá 1–2 měsíce, někdy i půl roku. Činnost kvasinek se postupně omezuje, až zcela ustane. Po ukončení kvašení a zastavení vývinu oxidu uhličitého počnou kvasinky sedimentovat na dno tanku a usazují se i kaly. Dokvašené víno se pak odděluje od sedimentu kalů a kvasinek stáčením do čistých zasiřených tanků.

V období od ukončení alkoholového kvašení do stáčení vína z kvasničných kalů probíhá tvorba révového vína. Probíhají při ní různé biologické a fyzikálně chemické procesy – biologické odbourání kyselin (jablečno–mléčné kvašení a ostatní biochemické přeměny kyselin). Tyto biochemické procesy jsou doprovázeny vylučováním vinného kamene a procesy samočištění, při nichž se srážejí a sedimentují shluky molekul opačného náboje

organického a anorganického charakteru (bílkoviny, polyfenoly, barevné látky, slizy, gumovité látky a kationty kovů i soli kyselin). Víno se pozvolna samovolně čistí. Víno po ukončení kvašení se nazývá mladé víno [6].

### **1.1.6 Ošetřování a školení vína**

Školení vína jsou všechny operace provedené sklepem od stočení z prvních kalů až do lahvování. Nejdůležitější je však víno dokonale vyčistit, aby získalo jas a jiskru.

Čištění vína lze urychlit čířením a následnou filtrací. Tyto procesy zajišťují vínu čírost a stabilitu, z vína odstraňují kaly rychle, bez poškození jakosti a při zachování svěžesti. Je to však nejnáročnější úkol pro sklepní techniky [5].

Pro každé víno se vybírá příslušný čerící prostředek. Používají se čeridla s kladným elektrickým nábojem (např. želatiny, vaječný bílek) nebo čeridla se záporným nábojem (bentonit, kyselina křemičitá). Nadbytek železitých solí se odstraňuje žlutou krevní solí, která vytváří komplexní sraženinu se železem, tzv. berlínskou modř., která navíc strhává s sebou na dno nádoby i jiné nežádoucí součásti obsažené ve vínu [5].

Při prvním stáčení se víno obvykle provzdušní a nastane další srážení kalů, především tříslobílkovinných. Proto se po 6–8 týdnech víno stáčí znovu. Ani po druhém stáčení není víno ještě dokonale čisté, čiré a schopné plnění do lahví. Zůstává nestálým koloidním roztokem, který podléhá různým biologickým a fyzikálně–chemickým změnám. Nepatrné koloidní částice rozptýlené ve vínu jsou nabitě elektrickými náboji. Pokud se ve vínu kladné a záporné náboje koloidních částic vyrovnají, koloidy se vysrážejí a je možno je odfiltrovat. Proto je důležité vybrat pro každé víno správné čířidlo [2].

Dalšími způsoby číření jsou mechanické postupy:

- filtrace přes křemelinu
- odstředování
- krátké zahřátí na vyšší teplotu (na 70–80 °C) bez přístupu vzduchu
- zchlazení vína na –4 °C po dobu asi 5 dnů
- zahřátí a ihned potom zchlazení na 0 °C po dobu 5–10 dnů [2]

### **1.1.7 Zrání vín**

I po vyškolení je nutno vínu ve sklepních prostorách věnovat nadále péči a sledovat jeho vývoj. V této fázi výroby vína se dotváří jeho chuť a aroma. Zráním získává víno svůj odrůdový charakter, rozhodující roli hrají oxidační a redukční procesy. Tempo zrání závisí ve velké míře na odrůdě, dále na ročníku, zeměpisné šířce pěstování révy [4].

Víno vyzrává v sudech nebo v ocelových tancích a po stočení také v lahvích [4].

### **1.1.8 Klasifikace révových odrůd a vín**

Klasifikace révových odrůd a vín je velice obtížná, jelikož se dá hodnotit podle mnoha kritérií. Víno se nejčastěji klasifikuje podle využití révových odrůd, podle zralosti hroznů zpracovaných k výrobě vína a podle zbytkového cukru. Rozdělování révových odrůd a vín je dáno Zákonem o vinohradnictví a vinařství č. 321/2004 Sb.[7].

### ***Klasifikace révových odrůd podle využití***

Podle využití lze víno dělit na stolní a moštové odrůdy.

Stolní odrůdy jsou svým příznivým senzoryckým charakterem a obsahem cenných nutričních složek, včetně vitamínů, určeny převážně pro přímý konzum jako ovoce a jen v malé míře se používají k výrobě révových vín.

Moštové odrůdy jsou hlavní surovinou pro výrobu révových vín. Zahrnují odrůdy se zabarvením zralých hroznů do různých odstínů zelené, červené a modré barvy. Na výrobu révových bílých vín se využívají odrůdy s bílými, růžovými nebo červenými hrozny. Červená vína se vyrábějí pouze z odrůd s modrou barvou hroznů [7].

### ***Klasifikace podle zralosti hroznů zpracovaných k výrobě vína***

Dle tohoto dělení rozlišujeme révové stolní víno, révové víno jakostní a révové víno s přívlastkem. Se zralostí hroznů úzce souvisí i obsah cukrů v hroznech.

Révové stolní víno smí být vyrobeno pouze z hroznů s cukernatostí nejméně 11 °NM nebo z odpovídajícího dováženého moštu či vína. Stolní víno nesmí být označeno názvem odrůdy ani oblasti. Je-li označeno jako české nebo moravské, nesmí přídavek hroznů či vína z dovozu přesáhnout 15 % objemu [2].

Révové víno jakostní je povoleno vyrábět ve dvou druzích jako odrůdové révové víno jakostní a známkové révové víno jakostní. Odrůdové révové víno jakostní se vyrábí z domácích odrůd s minimální cukernatostí 15 °NM, z dovážených hroznů o stejné cukernatosti nebo úpravou odpovídajícího dováženého vína. Při vyšším podílu dovážené suroviny než 50 % musí být uvedena pěstitelská země. Přídavek jiné odrůdy nesmí přesáhnout 15 %. Odrůdové révové víno jakostní musí být označeno vinařskou oblastí původu hroznů [2].

Známkové révové víno jakostní se vyrábí technologickými úpravami z odrůdových révových vín a musí vykazovat stálou jakost [2].

Révové víno s přívlastkem je povoleno vyrábět ve třech druzích—kabinet, pozdní sběr a výběr z hroznů. Podle současných legislativních předpisů je povoleno vína s přívlastkem vyrábět pouze z hroznů, u nichž je orgány státního dozoru ověřena kvalita, odrůda, původ i zpracovávaná hmotnost. Při jejich výrobě není povoleno dodatečné cukření moštů. Musí obsahovat nejméně 90 % odrůdy označené v názvu a dále musí nést přesné označení vinařské oblasti a obce původu. Druh kabinet se vyrábí z hroznů o cukernatosti nejméně 19 °NM, druh pozdní sběr z hroznů o cukernatosti nejméně 21 °NM a druh výběr z hroznů musí vykazovat cukernatost hroznů nejméně 24 °NM [2].

### ***Klasifikace vín podle zbytkového cukru***

Podle zbytkového cukru dělíme vína na suchá, polosuchá, polosladká a sladká. Třídění podle zbytkového cukru se řídí nařízením ES č. 607/2009.

Suchá vína jsou ta vína, která obsahují 4–9 g·l<sup>-1</sup> cukru. Maximální hranice je potom dána tím, zda rozdíl zbytkového cukru a celkového obsahu kyselin přepočtených na kyselinu vinnou je 2 gramy a méně [7].

Polosuchá vína jsou definovaná jako vína s maximálním obsahem cukru 12 g·l<sup>-1</sup>. Mohou obsahovat i 18 g·l<sup>-1</sup>, pokud rozdíl zbytkového cukru a celkového obsahu kyselin přepočtený na kyselinu vinnou je 10 gramů a méně [7].

U polosladkých vín se zbytkový cukr pohybuje v rozmezí 12–45 g·l<sup>-1</sup>. Sladká vína potom obsahují více jak 45 g zbytkového cukru v jednom litru [7].

### 1.1.9 Základní složky vína

Mezi základní složky vína patří alkohol, cukry, kyseliny a fenolické sloučeniny. U fenolických sloučenin zejména fenolické kyseliny, antokyany a třísloviny [3].

#### 1.1.9.1 Alkoholy

Alkoholy jsou hned po vodě druhou nejdůležitější složkou vína. Ve vínu bylo identifikováno více než 30 alkoholů. Většina z nich se vyskytuje v malém nebo stopovém množství. Nejvíce zastoupenými alkoholy jsou ethanol a methanol [2].

Ethanol je produktem fermentace cukrů kvasinkami:



Hned po vodě je ethanol nejpodstatnější složkou vína. Průměrně jeho obsah kolísá mezi 9–13 % obj, což odpovídá 70–100 mg·l<sup>-1</sup>. Práh vnímání ethanolu člověkem se pohybuje kolem 100 mg·l<sup>-1</sup>. Množství ethanolu vznikajícího při produkci vína přímo závisí na stavu zralosti hroznů (klimatické faktory, podmínky pěstování, sluneční expozice) a na druhu kvasinek.

Přítomnost methanolu ve vínu je spojena s hydrolyzou pektinů, kterou vykonávají enzymy hroznů během fermentace. Alkoholové kvašení samo methanol neprodukuje. Podíl methanolu ve vínu je přímo závislý na délce macerace pevných částí sklizených hroznů, zejména slupek. To je příčinou, proč je podíl methanolu v bílých vínech nižší (17–100 mg·l<sup>-1</sup>), zatímco v červených vínech jej nacházíme v rozsahu 60–230 mg·l<sup>-1</sup> [3].

#### 1.1.9.2 Sacharidy

Sacharidy jsou organické molekuly patřící do skupiny polyhydroxyderivátů karbonylových sloučenin. Obsahují buď aldehydickou, nebo ketonickou funkční skupinu. Nejčastěji se dělí podle počtu jednotek ve struktuře na monosacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Monosacharidy a oligosacharidy nesou sladkou chuť, polysacharidy sladké nejsou [6].

Nejdůležitějšími sacharidy ve vínu jsou monosacharidy glukóza a fruktóza, které jsou dobře rozpustné ve vodě. Jsou metabolizovány kvasinkami rodu *Sacharomyces cerevisiae* a vzniká ethanol a další vedlejší produkt [6].

Glukóza a fruktóza se v mošttech nacházejí v poměrně pravidelném podílu těchto cukrů, vztah glukóza : fruktóza je kolem 0,95:1,00 [3].

### **1.1.9.3 Kyseliny**

Ve vínu je obsaženo mnoho organických kyselin. Ve velkém množství jsou zastoupeny, především kyselina vinná, jablečná a citrónová. Ve vínu můžeme najít ve stopovém množství i minerální kyseliny [5][3].

Kyselina vinná se nachází v množství 3–7 g·l<sup>-1</sup> v mošttech a 2–5 g·l<sup>-1</sup> ve vínech. Vyznačuje se kovovou příchutí a agresivitou. Množství kyseliny vinné není ovlivněno kvasinkami. Pokud její množství klesá (0,5–1,5 g·l<sup>-1</sup>), je tento jev spojen s vysrážením vinného kamene (kyselého vínanu draselného) nejprve během fermentace, potom působením chladu. Kyselina vinná je odolná vůči působení většiny bakterií [3].

Kyselina jablečná může být nejčastější kyselinou ve vínu z méně vyzrálých hroznů. V moštu a ve vínu se kyselina jablečná vyskytuje ve svém levotočivém isomeru L (-). Podíl této kyseliny je značně proměnlivý, zejména podle odrůdy hroznů a podle klimatických podmínek. Uvádí se obsah 3–12 g·l<sup>-1</sup> v moštu a mezi 0–5 g·l<sup>-1</sup> ve vínu. V hroznech se její obsah vyzráváním snižuje. Tato kyselina je zkvasitelná [6].

Obsah kyseliny citrónové se pohybuje v rozmezí 0,2–0,5 g·l<sup>-1</sup> v moštu, ve vínech 0,05 až 0,5 g·l<sup>-1</sup>. Snížení této kyseliny ve vínu má svůj původ zejména ve velmi častém rozkladu bakteriemi mléčného kvašení. Kyselina citrónová je schopna vázat trojmocné železo do rozpustné sloučeniny. Z toho důvodu může být použita pro preventivní ošetření vína proti železitým zákalům. Přidávání kyseliny citrónové do vína je povoleno nařízením (ES) č. 606/2009 za podmínky, že konečný obsah této kyseliny nebude vyšší než 1 g·l<sup>-1</sup> [8].

### **1.1.9.4 Fenolické sloučeniny**

Jsou sloučeniny, jejichž molekula obsahuje jednu nebo více fenolických struktur. Tyto látky hrají hlavní roli v barvě vína. Dále pak působí na organoleptické vlastnosti vína a podílejí se na jevech uchovávání a ležení vín. Mimo barvy ovlivňují hořkost a svíravost chuti, dále jímavost kyslíku a průběh stárnutí moštu a vína. Při šetrném zpracování hroznů se obsah těchto látek v bílém vínu pohybuje v množství do 0,25 g·l<sup>-1</sup>. Fenolické sloučeniny se mohou dělit do několika skupin. V této práci budou studovány zejména fenolové kyseliny a antokyany [9].

Fenolové kyseliny se dělí do dvou skupin:

1. hydroxylové deriváty kyseliny benzoové, např. kyselina p-hydroxybenzoová, vanilová, gallová, syringová a další.
2. deriváty kyseliny skořicové, např. kyselina p-kumarová, kávová, ferulová, sinapová a další.

Hmotnostní množství fenolových kyselin je v rozmezí 0,1–0,2 g·l<sup>-1</sup> v červených a pouze 1–10 mg·l<sup>-1</sup> ve vínech bílých. Tyto kyseliny ve vínu pochází z hroznů, kde jsou nejčastěji vázány v esterech kyseliny vinné. Můžeme je však nalézt i na třísloviny nebo na cukry. Během vinifikace i uchovávání vín nastává pomalá hydrolýza uvedených složitých sloučenin, při které se fenolové kyseliny odštěpují a zůstávají ve volném stavu. Jsou inertní z hlediska chuťového [10].

Anthokyany jsou nejrozšířenější a početně velice rozsáhlou skupinou rostlinných barviv. Mnoho druhů ovoce, zeleniny, květin a dalších rostlinných materiálů vděčí za svoji atraktivní oranžovou, červenou, fialovou a modrou barvu, která zvyšuje jejich spotřebitelskou oblibu, právě této skupině ve vodě rozpustných barviv [11]. Anthokyany se nachází převážně v červených vínech.

## **1.2 Ovocná šťáva**

Pod pojmem ovocná šťáva si většina z nás představí džus. Je však nutné rozlišovat pojmy ovocná šťáva, ovocný nektar, ovocný nápoj, ovocná limonáda, šťáva vyrobená z koncentrátu a mošt [12].

Ovocná šťáva má 100% podíl ovocné nebo zeleninové složky. Je to nápoj, který je nejvíce mezi lidmi spojován s pojmem džus. Šťáva může být jednosložková nebo vícesložková [12].

Ovocný nektar je nápoj s podílem ovocné nebo zeleninové složky nižším než 100 %. Minimální obsah se liší podle toho, o jaký druh ovoce se jedná. Minimum je však 25 %. Nektary mohou být doslazovány přírodními cukry, medem nebo umělými sladidly. Mohou být k nim přidány vitaminy a minerály. Není povoleno jejich dobarvování ani přidavek konzervačních a aditivních látek [13].

Ovocný nápoj má podíl ovoce nebo zeleniny menší než je stanoven pro nektar. Většinou se obsah této složky pohybuje pod hranicí 25 %. Na rozdíl od ovocných nektarů lze do ovocných nápojů přidávat přídatné a aditivní složky [13].

Ovocná limonáda obsahuje jen stopové prvky ovocné nebo zeleninové šťávy. Je většinou syčená CO<sub>2</sub>. Stejně jako ovocné nápoje může obsahovat přídatné látky [13].

Šťáva vyrobená z koncentrátu se získá přidáním vody vhodné kvality a aroma odděleného při koncentraci ke koncentrátu. Přídavek musí být takový, aby výsledný produkt dosahoval kvality původní šťávy [13].

Označení mošt se většinou užívá pro šťávu získanou lisováním ovoce.

### **1.2.1 Výroba ovocných šťáv**

Samotná výroba ovocných šťáv začíná technologickými operacemi zpracování ovoce. Dále zde bude popsána výroba čirých ovocných šťáv a výroba šťavních koncentrátů.

#### **1.2.1.1 Předběžné technologické operace**

Mezi předběžné technologické operace při výrobě ovocných šťáv patří sklizeň ovoce, skladování, čištění, třídění (neboli inspekce) a odstranění nepoživatelných částí. Tyto operace jsou společné pro veškeré zpracování ovoce a zeleniny, ať už na ovocné nebo zeleninové šťávy či na ovocné nebo zeleninové pokrmy [14].



## **Sklizení**

To, kdy se bude sklízet ovoce nebo zelenina, závisí na tzv. technologické zralosti. Technologická zralost ovoce představuje stav plodiny (látkové složení, textura, barva a další) vyhovující požadavkům daného zpracování. Technologická sklizeň nemusí být shodná se sklizní konzumní. Většinou záleží na tom, jak dále chceme ovoce či zeleninu zpracovat [14].

Surovina pro konzervářské nebo mrazírenské zpracování se zpravidla sklízí strojově. Takto se však mohou sklízet pouze speciálně šlechtěné odrůdy ovoce a zeleniny, které kromě klasických požadavků musí vyhovovat potřebám mechanizované sklizně. Tzn. musí mít dostatečnou mechanickou odolnost plodů, jednotnou dobu dozrávání a vhodnou stavbu rostliny [14].

## **Skladování**

Vzhledem k tomu, že se při sklizni může ovoce poškodit a tím ztrácí na kvalitě, snaží se dlouhodobému skladování dodavatelé i zpracovatelé zabránit. Pokud není jiné cesty, skladuje se ovoce i zelenina v chladárnách, popřípadě v kombinaci s řízenou atmosférou. Musí se však dbát na to, aby se co nejméně množily mikroorganismy [14].

## **Čištění**

Čištění zahrnuje operace, které odstraňují kontaminanty na úroveň vhodnou pro další zpracování. Tento krok má klíčový význam v potravinářské výrobě, jelikož surovina, která obsahuje kontaminující látky v koncentracích, které není možné během technologického procesu snížit pod akceptovatelné minimum, nesmí být zpracována [14].

V praxi se využívají 2 typy čištění: suché a mokré čištění, neboli praní. Suché čištění je finančně méně náročné, ale taky méně účinné než praní, proto se používá méně. Řadí se sem různé separátory využívající proud vzduchu nebo principu nakloněných dopravních pásů, případně oddělování nečistot na sítích [14].

Praní je mnohem účinnější co se týče odstranění zeminy, prachu a reziduí pesticidů z většiny druhů ovoce a zeleniny, umožňuje i snížení možné mikrobiální infekce. Nevýhodou tohoto čištění je velká produkce nákladně zlikvidovatelných odpadních vod. Proces praní zahrnuje 3 základní části – předmáčení, vlastní praní a opláchnutí pitnou vodou. Na účinnost operace má vliv i vlastní složení prací lázně, teplota i mechanické namáhání povrchu prané suroviny [12].

## **Třídění (inspekce)**

V této technologické operaci se ovoce nebo zelenina třídí podle měřitelných fyzikálních vlastností. Cílem třídění je splnění podmínek pro dosažení vyžadované kvality konečného výrobku. Podle provedení je možné rozlišit třídění ruční a mechanizované, podle sledovaného parametru třídění dle jakosti, podle velikosti, podle barvy a podle zralosti [14].

## Odstranění nepoživatelných částí

Jako nepoživatelné části rostlin označujeme ty části, které jsou nestravitelné nebo vzhledem k dalšímu opracování ovoce nežádoucí. Pro každý druh ovoce nebo zeleniny je tato operace jiná. Pro širší spektrum surovin se používá odstopkování, odpeckování a loupání.

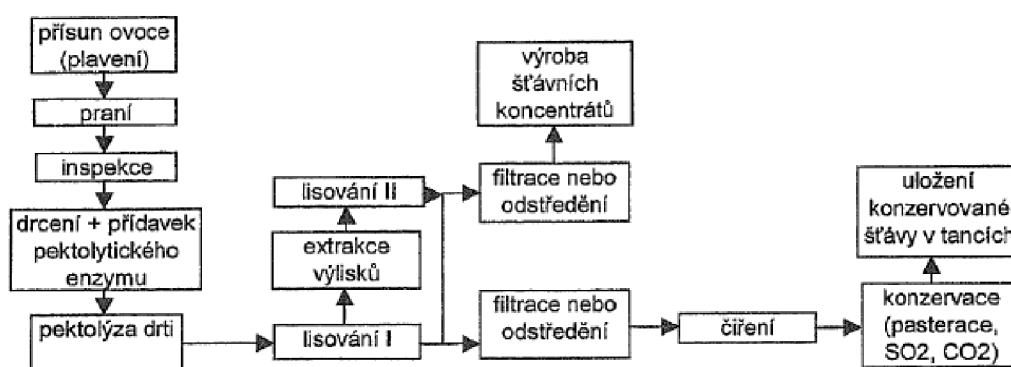
**Odstopkování** je nutné u ovoce, které se sklízí se stopkou. U měkkého a šťavnatého ovoce, jako jsou např. višně, třešně, rybíz, se oddělením stopky plod poškodí. Dochází potom k uvolňování šťávy a rychlé mikrobiální zkáze. U celé řady surovin se stopka při sklizni sama odděluje od plodu (broskve, meruňky) a při zpracování je třeba odstopkovat jen jednotlivé plody. U konzervářských surovin s delší stopkou se využívá strojního odstopkování [14].

**Odpeckování** se provádí u menších plodů vyražením trnem vhodného průměru, u větších plodů (meruňky, broskve) se plody nejprve půlí a pecky se vyloupnou. Na podobném principu jako je vedeno odpeckování, je vedeno i odjadřování [14].

**Loupání** je nezbytné při zpracování těch druhů ovoce a zeleniny, kdy je z nejrůznějších důvodů požadováno odstranění slupky z povrchu plodů. V konzervářské praxi se používají 3 typy loupání: mechanické, termické a chemické [14].

### 1.2.1.2 Výroba čirých šťáv

Čiré šťávy neboli šťávy neobsahující zákal, se připravují výhradně z ovoce. Výroba čirých šťáv je v dnešní době prvním stupněm výroby šťavnatých koncentrátů, které se skladují a které se pak dále používají pro přípravu nápojů, ovocných vín atd. Pro výrobu lisovaných šťáv se musí používat ovoce s vysokým obsahem šťávy, kyselinami bohaté a jinak vhodného složení, ve stavu, kdy se teprve blíží plné zralosti. Ovoce by nemělo být příliš tríslovité, napadené chorobami nebo mechanicky poškozené. Celý technologický postup výroby čirých šťáv uvádí Obrázek 1 [14].



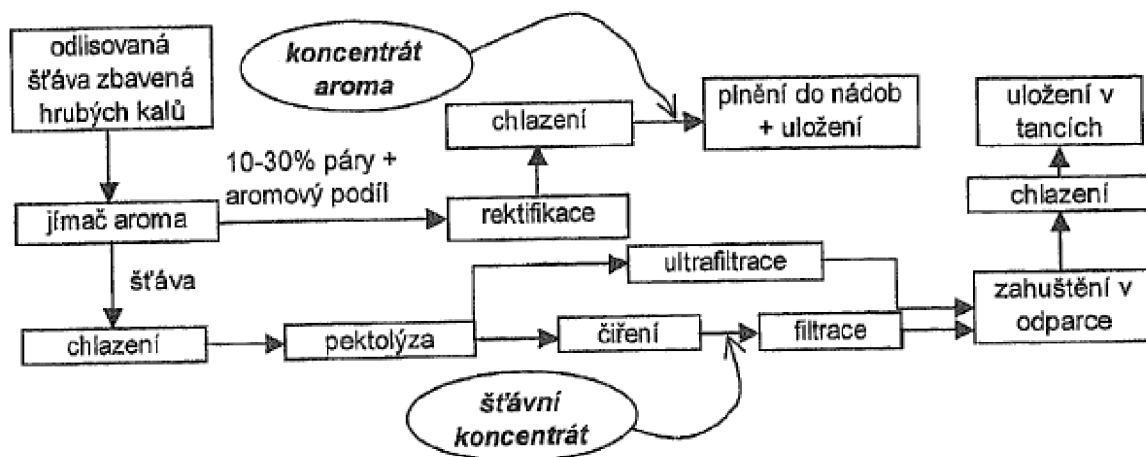
Obrázek 1 Výroba lisovaných šťáv [14]

### 1.2.1.3 Výroba šťavnatých koncentrátů

Tato výroba je v současné době hlavním způsobem konzervace vyráběných ovocných šťáv. Principem výroby je zahuštění ovocné šťávy až na koncentraci rozpustné sušiny 65–70 %, kdy je výrobek prakticky samoudržný v důsledku dostatečně nízké aktivity vody a nízkého pH. Šťavnatí koncentráty jsou pak využívány jako výchozí polotovar při výrobě

nealkoholických nápojů a ovocných vín. Malá část koncentrátů se ve světě konzumuje přímo ve formě ovocných medů.

Výroba těchto šťáv vychází ze surové ovocné šťávy zbavené hrubých kalů, v praxi většinou na sebe obě výroby bezprostředně navazují. Podrobný popis výroby zahuštěných ovocných šťáv uvádí Obrázek 2. Výsledný koncentrát by měl být husté sirupovité konzistence, obsah rozpustné sušiny alespoň 65 %. Pokud nebyl koncentrát vyroben z barevného ovoce, měl by být světlý, čirý, ovocné chuti bez cizích příchutí a zápachů, s obsahem kyselin 2–6 %. Běžná doba trvanlivosti je 10 měsíců [14].



Obrázek 2 Schéma výroby ovocných koncentrátů [14]

### 1.3 Přídavné látky

Přídavné látky jsou sloučeniny nebo jejich směsi, které se k potravině záměrně přidávají při výrobě, zpracování, skladování nebo balení za účelem zvýšení její kvality (prodloužení údržnosti, zlepšení vůně, chuti, barvy, textury, výživové hodnoty, technologických vlastností aj.). Mohou být i přirozenou součástí potraviny. Tyto látky se používají již od nepaměti [15].

Přítomnost přídavných látek musí být uvedena na obalu potravin. Označují se tzv. E-kódem se třemi nebo čtyřmi číslicemi. Schválená aditiva jsou rozdělena do různých kategorií podle funkcí a mají svůj specifický název. V současné době je na seznamu přídavných látek evidováno přes 2 500 sloučenin. V potravinářské výrobě je jich používáno kolem 350 [16].

Aditivní látky v potravinách splňují tyto hlavní úkoly:

- zajištění hygienické nezávadnosti potravin
- zlepšení kvality potravin
- zvýšení dostupnosti ve všech ročních obdobích
- zlepšení nebo udržení jejich nutriční hodnoty
- zvýšení jejich přijatelnosti pro spotřebitele
- zlepšení a usnadnění přípravy potravin [16].

### 1.3.1 Podmínky pro použití přídatných látek

Přídatné látky, které jsou legislativně povoleny, se mohou používat v následujících případech:

- jen při výrobě potravin, pro které jsou povoleny
- u potravin, které se ještě dále zpracovávají, smějí být přídatné látky použity pouze v tom případě, že jsou přídatné látky povoleny i v potravinách, které se z nich vyrábějí
- maximálně do nejvyššího povoleného množství (NPM), přičemž hodnoty nejvyššího povoleného množství se vztahují na potraviny ve stavu, v jakém se uvádějí na trh pouze v nezbytně nutném množství potřebném k dosažení zamýšleného technologického účinku tam, kde není stanovena hodnota nejvyššího povoleného množství
- pouze pokud je prokázána technologická potřeba jejich použití a požadovaného účelu nelze dosáhnout jinými prostředky
- pokud v použitém množství nepředstavuje riziko pro spotřebitele
- k zachování výživové hodnoty potraviny, přičemž záměrné snížení výživové hodnoty se přípouští pouze, pokud taková potravina nepředstavuje podstatnou složku běžné stravy nebo pokud použití přídatné látky je nezbytné pro výrobu potravin určených pro zvláštní výživu
- k dodání potřebné složky do potraviny, která je určena pro zvláštní výživu
- ke zvýšení trvanlivosti potraviny nebo zlepšení jejich organoleptických vlastností, a pokud se nezmění jakost potraviny, použití přídatné látky přitom nesmí vést ke klamání spotřebitele [16]

Přídatná látka může být obsažena:

- ve složené potravíně v množství stanoveném pro jednu složku
- v potravíně, která je určena pouze pro přípravu složené potraviny, a to v takovém množství, aby složená potravina vyhovovala dalším požadavkům
- v potravíně do které byla přidána aromatická látka v množství legislativně stanoveném a jehož prostřednictvím byla přídatná látka přenesena do potraviny za předpokladu, že v konečné potravíně neplní tato přídatná látka technologickou funkci [16]

Přídatnou látku nelze použít k výrobě:

- nezpracovaných potravin
- medu
- neemulgovaného tuku a oleje
- másla
- plnotučného, polotučného a odtučněného mléka, pasterovaného nebo sterilovaného včetně ošetřeného vysokou teplotou, a smetany
- neochucených kysaných mléčných výrobků s živou kulturou
- přírodních minerálních vod a balených pramenitých vod
- kávy s výjimkou ochucené instantní kávy a kávových extraktů
- nearomatizovaného čaje
- cukru

- sušených těstovin kromě bezlepkových těstovin nebo těstovin určených pro hypoproteinové diety
- neochuceného podmáslí s výjimkou sterilovaného podmáslí [16]

### **1.3.2 Dělení přídatných látek**

Přidatné látky jsou členěny na druhy nebo do kategorií v souladu s funkcí (tzv. funkční třídy), kterou v potravinách a v potravinářských enzymech zastávají. Některé přidatné látky je možno zařadit na základě jejich použití i do několika kategorií [15]. Pro účely této diplomové práce budou zmíněny pouze antioxidanty, a to kyselina askorbová a citrónová.

#### **1.3.2.1 Antioxidanty**

Antioxidanty jsou látky, které prodlužují trvanlivost potraviny a chrání ji proti oxidaci způsobené vzdušným kyslíkem. Oxidace se může projevit zejména žluknutím tuků nebo barevnými změnami potravin. Do skupiny antioxidantů patří aditiva s označením E 300 až E 321. Antioxidační vlastnosti vykazuje řada rostlinných potravinářských materiálů i bylin [16].

Potravinářské antioxidanty lze dělit podle funkce a původu. Podle funkce se antioxidanty rozdělují na primární antioxidanty, které ruší radikálové řetězové reakce. Další skupinu antioxidantů tvoří látky synergicky působící na sloučeninu. Ty se dále dělí na lapače kyslíku (siřičitany, kyselina askorbová a další) a chelatační činidla (kyselina fosforečná, EDTA a její sodná sůl, kyselina vinná, kyselina citrónová, kyselina fytová, lecitin a další) [16].

Podle původu se antioxidanty dělí na syntetické a na přírodní. Mezi přírodní antioxidanty se řadí kyselina askorbová, tokoferoly, lecitin, kyselina vinná, kyselina citrónová a další. Antioxidační schopnosti mohou vykazovat také některé extrakty získávané z rostlin. Ty však mají v potravinářském průmyslu často omezené použití, neboť mohou vonět po použitých rostlinách nebo mají hořkou chuť. Tyto antioxidanty se nemusí označovat symbolem „E“ [17].

#### **Kyselina askorbová**

Kyselina askorbová, neboli vitamin C, je vitamínem pouze pro člověka a několik dalších živočichů. Účastní se významných hydroxylačních reakcí probíhajících v organismu. Jako antioxidant reaguje s aktivními formami kyslíku a s oxidovanými formami vitamínu E, které zabezpečují ochranu vitamínu E a lipidů membrán před oxidací. Ochrannou funkci má i pro labilní formy kyseliny listové. Inhibuje tvorbu nitrosaminu a působí tak jako modulátor mutagenese a karcinogenese [[18],[15]].

Doporučovaný denní příjem vitamínu C se pohybuje v rozmezí 60–200 mg. Tyto hodnoty se liší podle uživatele a jeho . Vitamin C je přijímán především z potravy a to z brambor (20–30 %), zeleniny (30–40 %) a z ovoce (30–35 %). Nedostatek tohoto vitamínu v organismu se projevuje nejčastěji tzv. jarní únavou [15].

Kyselina askorbová se přidává jako aditivum k mnoha potravinám. Převážně se používá jako prevence proti oxidaci v průběhu skladování u nápojů jako jsou ovocné džusy, pivo a víno.

Jako aditivní látka se označuje kódem E 300. Tato látka může být použita také jako acidulant, tj. látka regulující kyselost potravin [16].

### **Kyselina citrónová**

Kyselina citrónová je slabá trikarboxylová kyselina nacházející se převážně v citrusových plodech. V menší míře ji lze nalézt v mnoha druzích ovoce a zeleniny. Je přírodní konzervační látkou a používá se jako dochucovací prostředek jídel, nealkoholických a alkoholických nápojů. V lidském organismu je důležitým meziproduktem v citrátovém cyklu.

Kyselina citrónová má mnoho využití. V potravinách se používá jako antioxidant nebo jako acidulant, tj. látka regulující kyselost potravin. Svými vlastnostmi zabraňuje růstu bakterií, kvasinek a plísní. Označuje se kódem E 330 [[15],[17], [19]].

## **1.4 Senzorická analýza vína a šťáv**

Senzorická analýza je vědní obor, který se zabývá hodnocením potravin pomocí lidských smyslů včetně zpracování výsledků lidským centrálním nervovým systémem.

Osoby, které se aktivně účastní sensorické analýzy, se nazývají hodnotitelé. Soubor těchto osob se nazývá komora. Jako konzument se označuje hodnotitel, který není speciálně odborně vzdělán, takže jeho názory a postoje i výsledky hodnocení jsou blízké názorům a výsledkům běžných spotřebitelů [20].

### **1.4.1 Smyslové vnímání**

Smyslový orgán člověka se skládá ze tří hlavních částí. Z čidla (receptoru), které přijímá popudy z vnějšku nebo i z vnitřku těla. Popud vyvolá podráždění receptoru a vzniká vzruch, což je zpravidla tok iontů. Tento vzruch vycházející z receptoru se nazývá vnitřní podnět. Druhá část smyslového orgánu je dostředivý nerv, který vede tento vzruch od receptoru do centrální nervové soustavy. Zde přichází vzruch nejprve do primárních sensorických oblastí, což je poslední část smyslového orgánu. Přivedený vzruch se dále zpracovává v asociačních oblastech. Informace přicházející do tohoto centra jsou upravovány např. tak, že intenzivnější vzruchy jsou podporovány a slabší potlačovány. Cílem je, aby se pozornost soustředila na významné informace a nerozptylovala se nepodstatnými vlivy. [20].

Člověk má k dispozici 5 základních smyslů, a to čich, zrak, chuť, sluch a hmat. Pro sensorická hodnocení v rámci této diplomové práce bylo potřeba pouze chuti, zraku a čichu. Tyto smysly budou níže popsány.

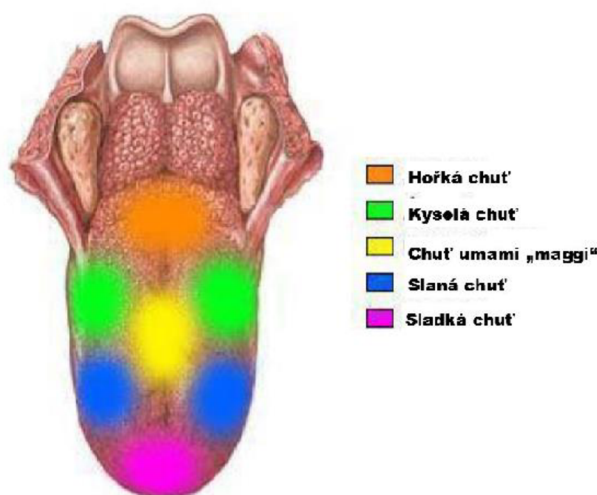
#### **1.4.1.1 Smysl chuťový**

Sídlo chuťového smyslu je v dutině ústní. Smysly jsou umístěny v chuťových pohárcích, které se vyskytují v prohlubních chuťových papil. Existují 4 druhy papil: rýhovitě (největší), houbovitě, lístkovitě a nitkovitě. Vlastních chuťových pohárků je kolem 2000 a s věkem jich ubývá. V každém pohárku je umístěno 10–40 chuťových buněk, které jsou různých typů.

Chuťové buňky jsou štíhlé tyčinky opatřené vlásky. Tyto buňky se neustále obnovují a každý člověk má jedinečnou sestavu receptorů.

Vnímání chuti začíná pozřením sousta. Chemické látky obsažené v potravě jsou rozpuštěny ve slinách. Takto putují po dutině ústní. Z dutiny ústní difundují až do chuťových pohárků, kde reagují s chuťovými receptory. Z chuťových receptorů jsou hlavovými nervy vedeny do mozku.

Chuťový smys rozpoznává tyto základní chutě: sladkou, slanou, hořkou, kyselou a chuť umami. Rozložení jednotlivých chutí uvádí Obrázek 3. Mezi ostatní chutě se může řadit chuť trpká a svíravá, palčivá a kovová [21].



Obrázek 3 Rozložení jednotlivých chutí na jazyku [22]

#### 1.4.1.2 Smysl čichový

Sídlem čichu je nos, přesněji horní část dutiny nosní. Tam jsou umístěny receptory citlivé na těkavé chemické sloučeniny. Čichové vjemy jsou hodnoceny značně emotivně. Příjemné vjemy jako vůně nebo jako aroma. Nepříjemné čichové vjemy se nazývají zápach. Samotné čichové buňky jsou podobné chuťovým. Mají podlouhlý tvar a na jednom konci jsou opatřeny vlásky. Na druhém konci jsou čichové buňky protaženy v nervové vlákno. Na rozdíl od chutí či barvy neexistuje žádná základní čichová škála.

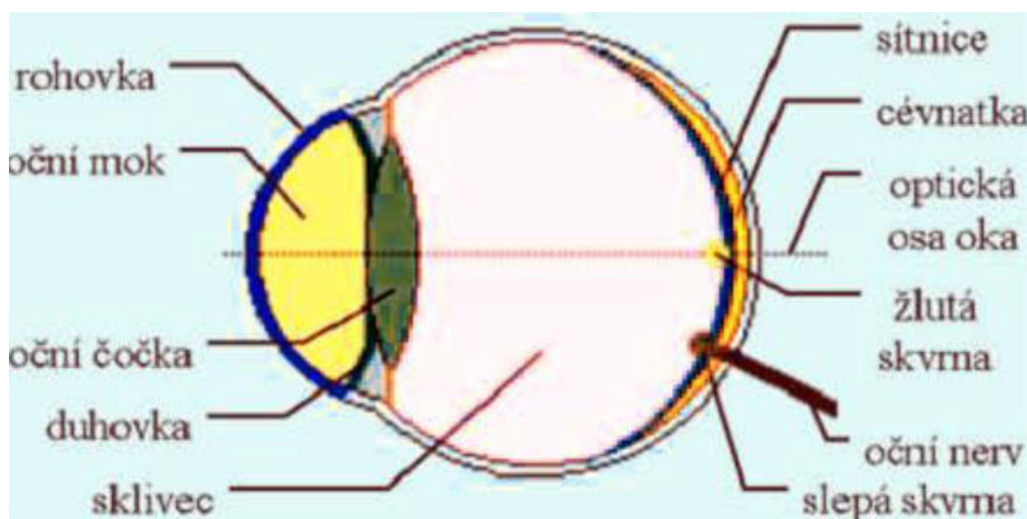
Průběh podráždění čichového receptoru je značně komplikovaný. Nejprve se musí plynné látky ve vdechovaném vzduchu rozpustit v sekretu čichových žlázek. Tyto látky vytvoří komplex s přenosovým proteinem. Přenosový protein přenesení látku k receptorům (tzv. G-proteiny), kde probíhá reakce. Uvolní se navázané enzymy. Výsledkem jejich činnosti je tok iontů. Poté je pomocí čichového nervu signál přenesen do mozku [[20][21]].

#### 1.4.1.3 Zrakový smysl

Sídlem zraku jsou oči. Oči jsou párový orgán, který umožňuje prostorové vidění. Zrakovým smyslem je člověk schopen vnímat elektromagnetické záření vlnového rozsahu

380–780 nm. Oči jsou z vnější strany chráněny obočím a řasami, které chrání oko před vnějšími vlivy. Oči jsou dále chráněny očními víčky, která regulují vstup světla. Mrkání víček zajišťuje zvlhčování oka slzami a zabraňuje jeho vysoušení.

Oko je velice složitý orgán. Jednotlivé složky jsou uvedeny na Obrázek 4. V sítnici jsou uloženy 4 druhy receptorů–3 druhy čípků a tyčinky. Čípky jsou citlivé na barvu světla a umožňují barevné vidění. Naopak tyčinky jsou citlivé na množství dopadajícího světla a umožňují vidění za šera a rozlišují odstíny šedi [20].



Obrázek 4 Základní složení oka [21]

Při vstupu do oka prochází světlo rohovkou a očním mokem. Otvorem duhovky pokračuje do oční čočky. Pak prochází sklivcem a dopadá na sítnici.

Pro senzoryckou analýzu má zrakový smysl největší význam ze všech výše zmiňovaných smyslů. Je to způsobeno tím, že člověk se do značné míry orientuje zrakem a podle toho, jak potravina vypadá, se pak zákazník rozhoduje, zda daný výrobek koupí či ne [20].

#### 1.4.2 Požadavky na senzorycké hodnocení

Pro získání objektivních výsledků, je třeba vybrat vhodné hodnotitele a použít standardizované metody. Výsledky ze senzoryckého hodnocení se pak zpracovávají statisticky. Hodnotitelé musí při hodnocení dodržovat určité návyky. Před hodnocením nesmí kouřit, jíst ostrá jídla a nepožívat alkohol. V den hodnocení by neměli používat kosmetické prostředky [20].

##### 1.4.2.1 Vybavení laboratoře

Vybavení senzorycké laboratoře je dáno příslušnou ISO normou. Každý hodnotitel by měl sedět ve vlastním boxu. Důraz je kladen na osvětlení laboratoře. Okna v laboratořích by měla být z mléčného skla. Samotné světlo nesmí být velice ostré, aby nezkreslovalo vzorek. Laboratoř musí být i dostatečně odvětrávána, aby pachy v místnosti nezkreslovaly hodnocení předložených vzorků.



Předkládání vzorků by mělo být chystáno tak, aby všichni hodnotitelé dostali stejné množství a nejlépe vzorky ve stejném pořadí. Vzorky pro sensorické hodnocení by měly být kódovány, nejlépe 4místnými čísly [20].

## **1.5 Přehled českého trhu s nízkoalkoholickými nápoji**

Nízkoalkoholický nápoj je definován jako alkoholický nápoj s obsahem alkoholu 0,5 až 1,5 % obj. Na českém trhu se v dnešní době objevují čím dál více tyto nápoje a jsou oblíbené především ve věkové kategorii 18–30 let [23].

Jedním z oblíbených nízkoalkoholických nápojů je Radler neboli ovocné pivo. Je to typ míchaného nápoje s nízkým obsahem alkoholu. Vzniká smícháním piva a ovocné limonády nebo ovocné šťávy. Poměr obou hlavních složek je 1:1. Obsah alkoholu zpravidla nepřekračuje 3 % obj. Tento nápoj pochází z Bavorska. Od roku 2002 se začala ovocná piva vyrábět i na území České republiky. Dnes vyrábí ovocná piva několik pivovarů. Jedním z nich je Zlatopramen který vyrábí 2 druhy Radlerů – citrón a pomeranč se zázvorem. Dalšími pivovary vyrábějícími ochucená piva jsou Staropramen, Gambrinus nebo Černá Hora [24].

Dalším typem nízkoalkoholického nápoje je cider. Je to nápoj, který vzniká řízeným kvašením jablečného moštu. Existují 2 typy těchto nápojů - anglický a francouzský. Tyto 2 druhy nápojů se od sebe liší postupem výroby. Francouzský cidr se musí vyrábět z kvalitní čerstvé jablečné šťávy a nemohou se používat koncentráty. U anglických typů ciderů je povoleno přidávat vodu, používat jablečný koncentrát a mohou se přidávat různé přídatné látky. Obsah alkoholu je nejčastěji 5 % obj. nebo nižší. Mezi známé značky ciderů patří Strongbow, Kingswood, Somersby a mnoho dalších [25].

Dalším nízkoalkoholickým nápojem je Frisco. Může se řadit mezi cidery, ale na rozdíl od výše zmíněných ciderů se liší tím, že není připraven kvašením jablečného moštu, ale kvašením sladu. V České republice tento nápoj vyrábí Plzeňský prazdroj. V současnosti se na trhu nachází Frisco ve 4 různých příchutích: Lesní ovoce, Ananas a lemongrass, Brusinka, Jablko a citrón. Obsah alkoholu je nejčastěji 4,5 % obj [26].

Nízkoalkoholickým nápojem na bázi vína, který je dostupný na českém trhu je Winka. Jedná se o nápoj obsahující vodu, víno a aroma, případně doslazující složku. Tento nápoj obsahuje podle údajů na obalu 6 % obj. alkoholu [27].

## **1.6 Použité analytické metody**

### **1.6.1 Spektrometrické metody**

Řadí se mezi analytické metody založené na interakci elektromagnetického záření s hmotou. Tyto metody se dělí podle toho, zda probíhají interakce, při nichž hmota a záření vyměňují energii nebo probíhají interakce, při nichž nedochází k výměně energie mezi hmotou a zářením. U druhé skupiny metod látka nějakým způsobem ovlivňuje vlastnosti procházejícího záření. Patří sem metody jako je refraktometrie, polarimetrie, rentgenová difraktometrie, a turbidimetrie [28].

První skupina, tedy ta, kdy si hmota a záření vyměňují energii, je rozsáhlejší. Základním hlediskem pro rozdělení spektrometrických metod této skupiny je, zda dochází k absorpci

nebo emisi záření látkou nebo k některému dalšímu možnému jevu s absorpcí nebo emisí spojenému (luminiscence) [29].

Spektrometrické metody lze klasifikovat také podle toho, zda dochází ke změnám energie na atomární nebo molekulární úrovni:

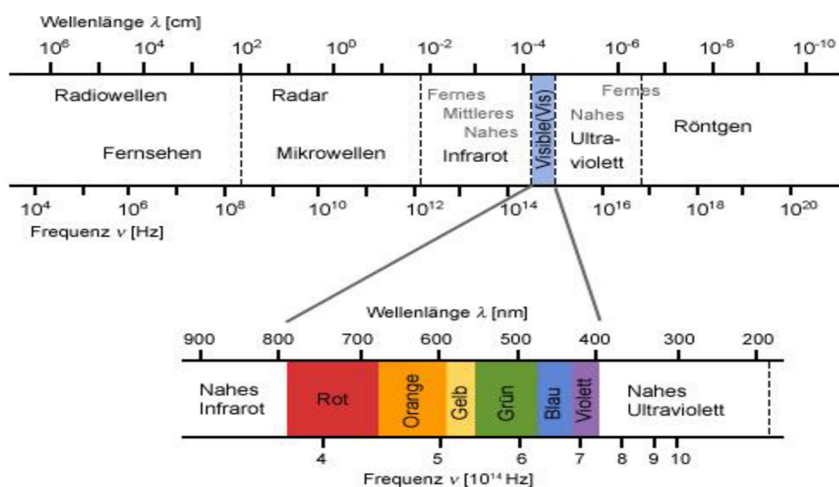
1. Pokud se mění energie na úrovni vnitřních elektronů, jedná se o rentgenové absorpční metody.
2. Pokud dochází k absorpci energie na hladině valenčních elektronů, mluvíme o atomové absorpční spektrometrii.
3. Pokud se mění energie mezi vazebnými nebo nevazebnými elektrony molekulárních orbitalů látek, jedná se o molekulovou absorpční spektrometrii.
4. Pokud dochází ke změně vibračního a rotačního stavu molekuly, mluvíme o infračervené spektrometrii.
5. Pokud dochází k absorpci záření jádry atomů nebo nepárovými elektrony, jedná se o metodu nukleární magnetické rezonance [28].

Pokud látka emituje záření, přechází z vyšších energetických hladin do nižších energetických stavů. Na vyšší energetickou úroveň se sloučeniny dostávají excitací, tzn. absorpcí nějaké formy energie [28].

Pro účely této diplomové práce byla použita UV–VIS spektrometrie, které je věnována další kapitola.

### 1.6.1.1 Molekulová absorpční spektrometrie v ultrafialové a viditelné oblasti (UV–VIS spektrometrie)

Tato spektrofotometrická technika se zabývá měřením a interpretací elektronových spekter molekul látek, které absorbují elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek 200 až 800 nm. Oblast ultrafialového záření leží v rozmezí 200–380 nm. Látky, které absorbují záření těchto vlnových délek, se jeví lidskému oku jako bezbarvé. Viditelná oblast se nachází v rozmezí 380–800 nm. Látky, které absorbují záření z této oblasti, se jeví lidskému oku barevné. Spektrum UV–VIS uvádí Obrázek 5 [29].



Obrázek 5 UV–VIS spektrum [30]

Pohlčením fotonů záření z ultrafialové či viditelné oblasti elektromagnetického spektra přechází molekula do excitovaného stavu. Molekula zůstává v tomto stavu velmi krátce, zhruba  $10^{-9}$  s. Po této krátké době přechází různými deexcitačními přechody zpět do základního stavu [28].

#### **1.6.1.2 Základní součásti UV–VIS spektrometru**

Moderní přístroje, které pracují s ultrafialovým a viditelným zářením se skládají z těchto základních částí: zdroj záření, zařízení pro umístění vzorku, disperzní prvky, pomocná optika, detektory záření.

#### **Zdroj záření**

Zdrojem záření je část přístrojového zařízení, která buď excituje vzorek a ten pak emituje charakteristické záření. Anebo tato část přístroje emituje primární záření, které je vzorkem absorbováno a velikost této absorpce je sledována, popřípadě se sleduje fluorescence.

UV–VIS spektrometrie umožňuje zaznamenávat velikost vzorkem absorbovaného záření. Jako zdroj spojitého primárního záření se pro oblast blízkého ultrafialového záření využívá nejčastěji deuteriová výbojka, méně často výbojka vodíková. Ve výbojkách dochází k emisi záření z atomů plynů, které jsou excitovány proudem elektronů mezi dvěma elektrodami. Za nízkých tlaků plynů poskytují výbojky čárové spektrum. Za vysokých tlaků plynů výbojky emitují spojitě záření.

Pro oblast viditelnou se pak používají wolframové nebo halogenové žárovky. Záření se řídí zákonitostmi platnými pro tzv. černé těleso. Emitované záření je spojitě (polychromatické). Na čím vyšší teplotu je žárovka zahřáta, tím menší vlnovou délku lze analyzovat [28].

#### **Disperzní systém a pomocná optika**

Disperzní systém tvoří základní optickou část přístrojů a slouží k prostorové separaci záření o určitém spektrálním intervalu vlnové délky. Patří sem monochromátory a filtry. V UV–VIS oblasti se využívají mřížky ve spojení se vstupní a výstupní štěrbinou. Zásadně má být aspoň pětkrát menší než je pološířka měřeného absorpčního pásu [28].

#### **Absorbující prostředí**

Toto prostředí je realizováno čirým roztokem v kyvetě. Při měření se do jedné kyvety umístí roztok sledované látky, do druhé roztok srovnávací. Tím je buď čisté rozpouštědlo nebo blank (slepý vzorek), který obsahuje všechny složky kromě analytu. Ve většině případů je jako čisté rozpouštědlo použita voda.

Kyvety mají konstantní známou vnitřní tloušťku absorbující vrstvy od 0,1 do 10 cm. Nejčastěji se užívá kyvet o tloušťce 1 cm. Pro oblast ultrafialového záření se kyvety nejčastěji vyrábějí z křemenného skla, pro oblast viditelného záření lze použít kyvety skleněné. Základní podmínkou pro jejich použití je, aby materiál, ze kterého jsou kyvety zhotoveny, sám neabsorboval záření ve sledovaném vlnovém rozsahu [28].

## Detektory

Detektory jsou zařízení, která převádějí energii záření v jinou formu energie, kterou je pak možno jednoduchým způsobem měřit. Nejčastěji je využíváno převedení na energii elektrickou (fotoelektrické a termoelektrické články), dále se využívá ionizačních účinků (proporcionální počítače), fotochemické reakce (fotografická detekce) a další.

Detektory záření jsou doplněny v přístrojích zesilovačem signálu a indikátorem, který převádí měřenou veličinu na veličinu, kterou jsme schopni jednoduše odečítat. Detektor poskytuje výstupní časově proměnný signál, i když není ozářen. Tento signál se nazývá šum detektoru a je pro měření nežádoucí. Pro kvalitní výsledky je třeba tento šum co nejvíce omezit. Citlivost detektoru je vyjádřena jako výstupní signál, který odpovídá zvolenému jednotkovému vstupnímu signálu. Úsek spektra, ve kterém dává detektor prakticky významnou odezvu, se nazývá pracovní rozsah detektoru.

Pro oblast UV–VIS se často využívá fotoelektrických detektorů citlivých na analyzované záření. Tyto přístroje jsou založené na vnějším a vnitřním fotoelektrickém efektu. Moderní přístroje umožňují měření absorbance v rozsahu 0,100–4,000 jednotek absorbance [29].

### Lambert–Beerův zákon

Pro vyhodnocení výsledků u molekulové absorpční spektrometrie se dá využít ve většině případů Lambert–Beerova zákona. Je uváděn ve tvaru:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \quad (2)$$

kde  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient a je pro každou látku charakteristický

$l$  je délka absorbující vrstvy (většinou se bere délka kyvety, a to 1 cm)

$c$  je koncentrace dané látky

$A$  je absorbance.

Pro to aby bylo možno tento zákon použít, musí platit:

- Záření musí být monochromatické
- Roztoky musí být velmi zředěné ( $c < 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ )
- Absorbující prostředí nesmí podléhat žádným změnám
- V roztoku musí být jen jedna absorbující složka

Pro aplikaci Lambert –Beerova zákona je nutné nejprve naměřit kalibrační závislost. Ta se získá měřením sady standardních roztoků a vnesením závislosti jejich absorbancí na koncentraci dané látky. Regresní rovnice kalibrační přímky pak odpovídá znění Lambert–Beerova zákona. Z této rovnice pak po matematické úpravě lze vypočítat koncentraci analyzované neznámé látky [29].

### 1.6.2 Separační metody

Separační metody patří v dnešní době mezi nejpoužívanější analytické metody. Mezi tyto metody se řadí i kapalinová chromatografie. [29].

### **1.6.2.1 HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)**

V kapalinové chromatografii se jako mobilní fáze používá kapalina, stacionární fázi jsou pevné částice nejrůznější struktury [31].

Separace a eluce jednotlivých složek směsi je ovlivněna jak povahou stacionární fáze, tak povahou mobilní fáze. Eluce může být provedena buď mobilní fází o konstantním složení. Potom se jedná o eluci isokratické. Druhá možná eluce, která se využívá, je eluce gradientová. Při této eluci je mobilní fáze v průběhu děje programově měněna. Použití isokratické či gradientové eluce je závislé od toho, jaké látky dělíme. Pokud dělíme látky, které mají podobné fyzikálně–chemické vlastnosti, je lepší použít eluci isokratickou. Pokud však látky mají různé fyzikálně–chemické vlastnosti, potom můžeme použít eluci gradientovou [31].

### **Obecné schéma kapalinového chromatografu**

Kapalinový chromatograf se skládá z následujících částí:

- Zásobníky mobilní fáze, odplynovač mobilní fáze – slouží k přípravě mobilní fáze;
- Čerpadlo – zajišťuje transport a dodávání mobilní fáze;
- Dávkovací smyčka – umožňuje dávkování vzorku do kolony;
- Předkolona, kolona – zde probíhá separace jednotlivých složek vzorku;
- Detektory – umožňují sledovat změny měřené veličiny
- Počítač – řízení chromatografu a sběr dat [31].

### **Čerpadla**

Jedním ze základních částí chromatografu je čerpadlo. To musí zajistit stabilní průtok mobilní fáze při vysokých tlacích. Musí být rovněž schopno pracovat při konstantním tlaku nebo při objemovém průtoku. Oba typy pracují na principu vytlačování mobilní fáze ze zásobníku pístem nebo membránou. Rozdíl je ve způsobu dosažení pohybu pístu čerpadla. U čerpadel, která pracují s konstantním tlakem, se využívá tlak plynu nebo hydraulické kapaliny na píst čerpadla. Čerpadla pracující s konstantním objemovým průtokem využívají k pohybu pístu mechanický pohon [31].

### **Dávkování**

V dnešní době se v kapalinové chromatografii nejčastěji využívá automatických dávkovačů. Tyto dávkovače jsou spojeny se zásobníkem vzorků, ve kterém jsou umístěny uzavřené vialky se vzorky. Vzorek se dávkuje mechanickým zařízením, které odměřuje dávkovaný vzorek prostřednictvím smyčky o přesném objemu. Při manuálním dávkování vzorku se využívá dávkovací kohoutu se šesticestným ventilem a dávkovací smyčkou [31].

### **Kolony**

Kolony pro HPLC jsou připravovány výhradně komerčně. Uživatel může jen minimálně ovlivnit konstrukci, rozměry a tvar chromatografické kolony, může si maximálně zvolit druh sorbentu a jeho zrnění.

Pro analytické účely se využívají kolony o vnitřních průměrech 2,1 až 4,6 mm, délce 20 až 300 mm a plněné náplněmi o velikosti částic 1 až 5  $\mu\text{m}$ . Jako druh sorbentu se nejčastěji využívá silikagel, modifikovaný silikagel či různé druhy polymerních materiálů. [[31], [32]].

### **Detektory**

Detektory jsou v HPLC systému umístěny za chromatografickou kolonou a zaznamenávají rozdíl v signálu mezi průchodem čisté mobilní fáze a mobilní fáze obsahující analyt. Detektory můžeme rozdělit na koncentrační a hmotnostní. Koncentrační detektory reagují na změnu koncentrace protékajícího eluátu a hmotnostní detektory reagují na změnu toku hmoty. Další možností je dělení na detektory nedestrukční a destruktivní. U nedestrukčních detektorů nedochází k chemické změně detekované složky a u destruktivních detektorů detekovaná složka změní své fyzikálně–chemické vlastnosti.

Nejvíce používané jsou UV–VIS, fluorescenční a hmotnostní detektory [31].

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část byla rozdělena na část senzoričnou a na část chemickou.

### 2.1 Použité chemikálie

Tabulka 1 Použité chemikálie

<b>Chemikálie:</b>	<b>Firma:</b>	<b>čistota:</b>
Fehlingův roztok I	Lachner	Směs
Fehlingův roztok II	Penta s.r.o.	Směs
manganistan draselný	Penta s.r.o.	99 %
kyselina sírová	Penta s.r.o.	96 %
kyselina šřavelová dihydrát	Penta s.r.o.	99 %
síran železitý	Penta s.r.o.	40% roztok
hydroxid sodný	Sigma Aldrich	99,9 %
chlorid draselný	Lachema	99,5 %
kyselina chlorovodíková	Lachner	35–38 %
octan sodný	Lachema	99,0 %
kyselina octová	Lachner	99,8 %
demineralizovaná voda	–	–
kyselina gallová	Sigma aldrich	97,5 %
uhličitan sodný	Penta s.r.o.	99,0 %
Folin – Ciocalteuovo činidlo	Sigma Aldrich	Směs
acetonitril	Sigma Aldrich	99 %

## 2.2 Přístroje a zařízení

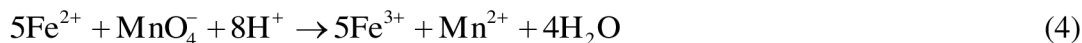
Tabulka 2 Použité přístroje

Přístroje:	Firma:
pH metr	Mettler Toledo
elektromagnetické míchadlo	IKA
analytické váhy	Boeco, Japonsko
Spektrofotometr UV – VIS	Helios Delta
HPLC	Agilent 1200 Infinity

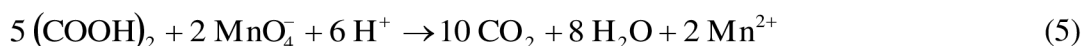
## 2.3 Chemické metody

### 2.3.1 Stanovení redukcí cukrů podle Bertranda

Tato metoda byla použita pouze pro stanovení celkových redukcí sacharidů v aroniovém koncentrátu. Princip tohoto stanovení lze shrnout následujícími rovnicemi [33]:



Samotné manganometrické stanovení probíhá dle rovnice:



### Standardizace odměrného roztoku manganistanu draselného kyselinou šťavelovou

Bylo naváženo 0,637 0 g dihydrátu kyseliny šťavelové a kvantitativně převedeno do odměrné baňky na 100 ml. Z tohoto roztoku bylo odebráno 10 ml do titrační baňky. K množství 10 ml kyseliny šťavelové bylo přidáno 5 ml kyseliny sírové a 1 ml roztoku manganistanu draselného. Poté se směs zahřála na 60 °C a byla zahřívána do té doby, dokud se neodbarvila. Poté byla titrována odměrným roztokem manganistanu draselného do prvního růžového zbarvení. Standardizace byla provedena třikrát a byla vypočtena průměrná hodnota [33].

### Stanovení redukcí cukrů podle Bertranda

Do odměrné baňky o objemu 100 ml bylo napipetováno 0,4 ml aroniového koncentrátu. Odměrná baňka s koncentrátem byla zvážena s přesností na 4 desetinná místa. Poté byl vzorek doplněn vodou a byl promíchán. Do erlenmeyerovy baňky bylo napipetováno 20 ml Fehlingova roztoku I a II, směs byla pak zahřata na teplotu 60 °C. Poté bylo přidáno 10 ml zředěného roztoku koncentrátu a směs byla dále zahřívána až k varu. Var byl udržován po dobu 2 minut. Po této době byla baňka ochlazena pod proudem vody. Sraženina oxidu



měďnatého klesla na dno a kapalina byla dekantována přes filtrační kelímek S4. Oxid měďný v baňce i ve filtračním kelímku byl udržován pod hladinou kapaliny. Sraženina byla kvantitativně převedena na fritu a byla promývána horkou vodou. Poté byl filtrační kelímek přesazen na čistou odsávací baňku a sraženina byla rozpuštěna postupným přidáváním 50 ml roztoku síranu železitého. Roztok v odsávací baňce byl titrován odměrným roztokem manganistanu draselného do slabě růžového zbarvení.

### **2.3.2 Stanovení veškerých titrovatelných kyselin potenciometrickou titrací**

#### **Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného**

Roztok hydroxidu sodného byl standardizován pomocí dihydrátu kyseliny šťavelové o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . 10 ml dihydrátu kyseliny šťavelové o dané koncentraci bylo napipetováno do titrační baňky. Byly k nim přidány 3 kapky fenolftaleinu a takto připravený roztok byl titrován hydroxidem sodným.

#### **Vlastní stanovení**

25 ml vzorku bylo napipetováno do kádinky a bylo za stálého míchání titrováno odměrným roztokem hydroxidu sodného do hodnoty pH 7. Inflexní bod byl sledován potenciometricky **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**, [34].

### **2.3.3 Stanovení fenolických kyselin pomocí Folin–Ciocalteuova činidla**

#### **Příprava roztoků**

##### **7,5% uhličitan sodný**

Bylo naváženo 15 g krystalického uhličitanu sodného, navážka byla rozpuštěna v odměrné baňce o objemu 200 ml a doplněna destilovanou vodou po rysku [33].

#### **Kalibrační přímka na stanovení fenolických kyselin**

Celkový obsah fenolických látek se při tomto stanovení vztahuje na kyselinu gallovou. Byla proto připravena 5bodová kalibrační přímka této kyseliny. Její zásobní standardní roztok byl připraven o koncentraci  $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny pracovní standardní roztoky kyseliny gallové o koncentracích 12,5; 25,0; 50,0; 100,0 a 200,0  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ .

Do 5 zkumavek bylo napipetováno po 0,1 ml připravených pracovních standardních roztoků. K nim bylo přidáno 0,1 ml Folin–Ciocalteuova činidla a 1,8 ml destilované vody. Směs se protřepala a nechala se stát 5 minut. Poté bylo k připravené směsi přidáno 1 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a směs se nechala reagovat další 2 hodiny. Poté byly vzorky proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm. Nalezené hodnoty byly vyneseny do grafu závislosti absorbance na koncentraci kyseliny galové.

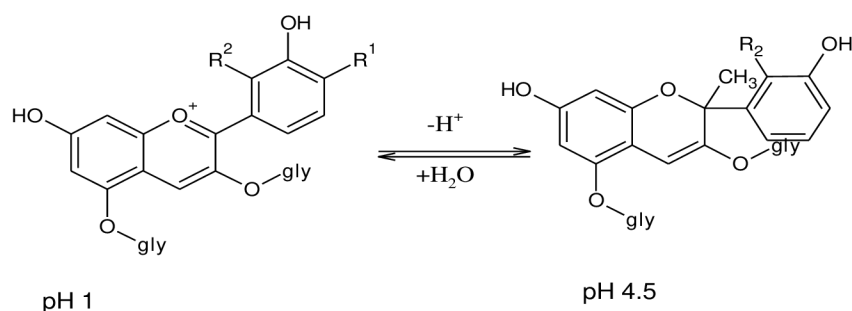
#### **Příprava vzorků**

K 0,1 ml vzorku bylo přidáno 0,1 ml Folin–Ciocalteuova činidla a 1,8 ml destilované vody. Směs se nechala 5 minut odstát. Poté bylo k dané směsi přidáno 1 ml 7,5% uhličitanu sodného

a směs se nechala reagovat po dobu 2 hodin. Poté byly vzorky proměřeny na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm [34][33].

### 2.3.4 Stanovení anthokyanových barviv pH diferenciální metodou

Princiem stanovení celkového obsahu anthokyanových barviv je jejich odlišná struktura při rozdílném pH (viz Obrázek 6). Tato změna struktury je sledována spektrofotometricky při dvou vlnových délkách.



Obrázek 6 Princip stanovení anthokyanových barviv [35]

#### Příprava chloridového pufru

1,86 g chloridu draselného bylo rozpuštěno v 980 ml destilované vody. Kyselinou chlorovodíkovou bylo upraveno pH pufru na hodnotu 1. Takto připravený chloridový pufr byl kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 1 l a byl doplněn po rysku destilovanou vodou.

#### Příprava acetátového pufru

54,43 g octanu sodného bylo rozpuštěno v 960 ml destilované vody. pH pufru bylo upraveno na hodnotu 4,5 kyselinou octovou. Takto připravený acetátový pufr byl kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 1 l a byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

#### Příprava vzorků na stanovení anthokyanových barviv

Veškeré vzorky byly dle potřeby ředěny. Pro stanovení anthokyanových barviv u jednoho vzorku bylo do 6 zkumavek napipetováno 0,5 ml příslušným poměrem zředěného vzorku. Do tří zkumavek bylo přidáno 2,5 ml acetátového pufru o pH 4,5 a do dalších tří zkumavek bylo přidáno 2,5 ml chloridového pufru o pH 1. Vzorky byly proměřeny spektrofotometricky při vlnových délkách 510 a 700 nm.

#### Výpočet obsahu anthokyanových barviv

Nejprve bylo nutné vypočítat celkovou absorbanci vzorku podle vzorce:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5} \quad (6)$$

Poté se vypočítá koncentrace monomerního pigmentu ( $c_{mp}$ ) podle vzorce:

$$c_{mp} = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 1000}{\epsilon \cdot l} \quad (7)$$

kde **A** je podle rovnice (5) vypočtená celková absorbance

**Mr** je molekulární hmotnost kyanidinu-3-galaktosidu (449,2)

**F** je faktor zředění

**$\epsilon$**  je molární absorpční koeficient ( $26\,900 \text{ l} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )

**l** je tloušťka kyvety (1 cm).

## 2.4 Chromatografické stanovení jednotlivých sacharidů

### 2.4.1 Příprava roztoků pro kalibrační závislost

Pracovní standardní roztoky pro měření kalibrační závislosti studovaných sacharidů (glukózy a fruktózy) byly připraveny ze zásobních standardních roztoků jednotlivých sacharidů o koncentraci  $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Pracovní kalibrační standardy měly koncentrace 100; 500 a 1 000  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Kalibrační řada byla proměřena na HPLC, každý standard byl proměřen třikrát, ze získaných hodnot byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Nalezené hodnoty byly vyneseny do grafu.

### 2.4.2 Příprava vzorků

Před dávkováním byly veškeré vzorky šťáv a vína zředěny tak, aby jejich koncentrace byla menší než poslední hodnota kalibrační řady, tj než  $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Vzorky kombinovaných nápojů byly zředěny 45krát a vzorek vína byl zředěn 2krát. Vzorky byly zfiltrány přes mikrofiltr o porozitě  $0,45 \mu\text{m}$ , přeneseny do vialek a umístěny do dávkovacího zařízení chromatografu.

### 2.4.3 Podmínky chromatografické analýzy

Byla použita kolona Prevail Carbohydrates ES RP-C18, 250 x 4,6 mm,  $5 \mu\text{m}$ . Podmínky analýzy jsou popsány v Tabulka 3. Jako detektor byl použit ELSD detektor.

Tabulka 3 Podmínky chromatografické analýzy

Mobilní fáze:	Acetonitril:voda (75:25 v/v)
Průtok mobilní fáze:	$1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$
Celková doba analýzy:	30 min
Velikost dávkovaného vzorku:	$10 \mu\text{l}$
Teplota kolony:	$35 \text{ }^\circ\text{C}$
Vypařovací teplota:	$65 \text{ }^\circ\text{C}$
Zmlžovací teplota:	$90 \text{ }^\circ\text{C}$
Průtok plynu ( $\text{N}_2$ ):	$1,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

## 2.5 Pracovní postupy pro míchání kombinovaných nápojů

Byly připraveny 4 sady kombinovaných nápojů. Pomocí senzorické analýzy bylo vybráno nejvhodnější víno pro výrobu nápoje.

K přípravě nápojů byla použita upravovaná pitná voda, kterou firma odebírá z vodovodního řadu a upravuje na požadovanou kvalitu. Další surovinou bylo bílé suché víno, které bylo vybráno ze 4 nabízených druhů. Pro doslazení nápoje byl použit rektifikovaný moštový koncentrát (RMK). To je hroznová šťáva, z níž byla rektifikací odstraněna určitá část vody a s ní i většina aromatických látek. RMK je tedy viskózní sladká tekutina 60 °Brix, prakticky bez dalších příchutí. Jako ovocná složka byl použit koncentrát aroniové šťávy, případně obohacený další ovocnou příchutí.

Další doplňovanou složkou hodnocenou senzorickou analýzou byly přídatné látky, a to kyselina citrónová a vitamin C. V další verzi nápoje bylo upraveno množství aroniového koncentrátu a tím i ostatní složky nápoje. V poslední verzi nápoje bylo analyzováno, zda je lepší samotný nápoj s čistou arónií nebo arónie s příměsí jiného ovoce. Jednotlivé senzorické analýzy a složení nápojů uvádí Tabulka 4 až Tabulka 8.

Tabulka 4 Základní složení kombinovaného nápoje

Jednotlivé složky:	Složení [%]
Voda	50
Víno	30
RMK	12
Arónie	8

Tabulka 5 Výběr vhodného vína pro přípravu kombinovaného nápoje

Kód nápoje:	Použité víno:
2318	Ryzlink vlašský
2319	Děvín
4947	Rulandské šedé
4898	Směs vína

Tabulka 6 Senzorické hodnocení přídatných látek

Složení [%]	Nápoj 1848	Nápoj 2315	Nápoj 2255	Nápoj 8954
<b>Voda</b>	57	57	57	57
<b>Víno</b>	30	30	30	30
<b>RMK</b>	12	12	12	12
<b>Arónie</b>	1	1	1	1
<b>Kyselina citrónová</b>	–	–	1 g·l <sup>-1</sup>	1 g·l <sup>-1</sup>
<b>Vitamin C</b>	–	1 g·l <sup>-1</sup>	–	1 g·l <sup>-1</sup>

Tabulka 7 Výběr vhodného poměru jednotlivých složek kombinovaného nápoje

Složení [%]	Nápoj 2116	Nápoj 9798	Nápoj 8954
<b>Voda</b>	70	50	57
<b>Víno</b>	20	30	30
<b>RMK</b>	9	19	12
<b>Arónie</b>	1	1	1
<b>Kyselina citrónová</b>	11 g·l <sup>-1</sup>	21 g·l <sup>-1</sup>	11 g·l <sup>-1</sup>
<b>Vitamin C</b>	11 g·l <sup>-1</sup>	21 g·l <sup>-1</sup>	11 g·l <sup>-1</sup>

Tabulka 8 Senzorické hodnocení nápoje s čistou arónií a arónií s další ovocnou složkou

Složení [%]	Nápoj 2161	Nápoj 9820	Nápoj 1871	Nápoj 8954
<b>Voda</b>	57	57	57	57
<b>Víno</b>	30	30	30	30
<b>RMK</b>	12	12	12	12
<b>Ovocná složka</b>	Arónie+brusinka	Arónie + lesní jahoda	Arónie + borůvka	Arónie
<b>Obsah ovocné složky [%]</b>	1	1	1	1
<b>Kyselina citrónová</b>	1 g·l <sup>-1</sup>	1 g·l <sup>-1</sup>	1 g·l <sup>-1</sup>	1 g·l <sup>-1</sup>
<b>Vitamin C</b>	1 g·l <sup>-1</sup>	1 g·l <sup>-1</sup>	1 g·l <sup>-1</sup>	1 g·l <sup>-1</sup>

## 2.6 Použité komerční nápoje

Pro srovnání chemických vlastností připraveného kombinovaného nápoje byly vybrány některé nízkoalkoholické nápoje. Jako komerční nápoje byly vybrány Frisco s příchutí

brusinky a Strongbow černý rybíz. Popis a složení jednotlivých nápojů jsou uvedeny níže. Údaje jsou převzaty z etikety nápojů.

**Frisco brusinka** (obsah alkoholu 4,5 obj.%)

Kvašený sladový nápoj s příchutí brusinek. Pasterizováno.

Složení: ječný slad, sacharóza, glukózový sirup, oxid uhličitý, kyselina citrónová, kyselina mléčná, přírodní barvivo: koncentrát z mrkve. Přírodní aroma

**Strongbow černý rybíz** (obsah alkoholu 4,5 obj %)

Cidr zkvašená jablečná šťáva z koncentrátu s glukózou. Pasterováno.

Složení: voda, jablečná šťáva z koncentrátu, glukózo–fruktózový sirup, šťáva z černého rybízu (1 %), barvivo: černá mrkev, kyselina jablečná, oxid uhličitý

Antioxidant: disiřičitan draselný, přírodní aroma černý rybíz

## **2.7 Senzorická analýza nápojů**

Senzorické hodnocení probíhalo v senzorické laboratoři. Jako hodnotitelé byli zvoleni studenti posledních ročníků bakalářského studia, jelikož nápoj by měl být určen pro věkovou skupinu 18–25 let. Zúčastněným hodnotitelům byly předloženy vzorky jednotlivě. Jako neutralizační prvek byla podávána voda. Hodnotitelům byl předložen dotazník, který je uveden v příloze. Tento dotazník byl podle potřeby obměňován. Hodnotitelé měli za úkol zaměřit se na hodnocení vůně, intenzity barvy, čirosti a chutě nápoje.

### 3 Výsledky a diskuze

#### 3.1 Stanovení vybraných chemických vlastností u jednotlivých složek kombinovaného nápoje

Kombinovaný nápoj byl připravován z vody, vína, rektifikovaného moštového koncentrátu a ovocné složky. Výchozí ovocnou složkou byl zvolen aróniový koncentrát, popřípadě aróniový koncentrát s příměsí jiného ovoce. Chemickým testům byl podroben aróniový koncentrát, víno vhodné pro přípravu kombinovaného nápoje, vybrané kombinované nápoje. Dále byly analyzovány 2 vybrané komerční, aby bylo umožněno srovnání vlastností nápojů již dostupných na trhu a námi vyráběného nápoje.

##### 3.1.1 Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda

Tato metoda byla použita pouze pro stanovení redukujících cukrů v aróniovém koncentrátu. V ostatních případech byly cukry stanoveny pomocí HPLC.

Postup stanovení redukujících cukrů podle Bertranda je popsán v kapitole 2.3.1. Nejprve byla provedena standardizace odměrného roztoku manganistanu draselného pomocí dihydrátu kyseliny šťavelové o koncentraci  $0,05 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Tím byla získána přesná koncentrace odměrného roztoku manganistanu draselného, která činila  $0,0228 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Naměřené výsledky vlastního stanovení uvádí Tabulka 9.

Tabulka 9 Vlastní stanovení redukujících cukrů podle Bertranda u aróniového koncentrátu

Vzorek:	Spotřeba $\text{KMnO}_4$ [ml]
1	4,5
2	4,4
3	4,2
<b>Průměr:</b>	4,4
<b>Hmotnost prázdné baňky:</b>	$m_0 = 37,7932 \text{ g}$
Hmotnost baňky se vzorkem:	$m_1 = 38,2222 \text{ g}$
Hmotnost samotného vzorku:	$m_2 = 0,4290 \text{ g}$
Obsah redukujících cukrů w [%]	38,3 %

V aróniovém koncentrátu bylo stanoveno 38,3 hmotnostních % redukujících sacharidů.

Bertrandova metoda byla použita proto, abychom zjistili obsah redukujících cukrů. Aróniová šťáva obsahuje ještě značné množství sorbitolu, jehož množství nebylo možno stanovit HPLC. Pro celkový odhad sladkosti aróniového koncentrátu byla hodnota redukujících cukrů navýšena o množství sorbitolu převzaté z literatury [36].

### 3.1.2 Stanovení titrační kyselosti

Titrační kyselost byla stanovena u aróniového koncentrátu, ve vínu, ve vybraných kombinovaných nápojích a vybraných komerčních nápojích. Jako srovnávací komerční nápoje byly použity Frisco brusinka a Strongbow černý rybíz.

Titrační kyselost vyjadřuje obsah minerálních a organických kyselin v analyzovaném vzorku a stanoví se potenciometrickou titrací standardním roztokem hydroxidu sodného. Podrobný postup stanovení je uveden v kapitole 2.3.2.

Nejprve byla provedena standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného pomocí dihydrátu kyseliny šřavelové o koncentraci  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Přesná koncentrace hydroxidu sodného byla  $0,2475 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Samotné vzorky byly proměřeny třikrát a z naměřených hodnot byl vypočten průměr. Nalezená koncentrace vodíkových iontů pak byla přepočítána na kyselinu, která byla v daném vzorku majoritní.

Tabulka 10 Titrační kyselost u jednotlivých analyzovaných složek

Vzorek:	$c_{\text{H}^+} [\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}]$	Kyselina	$c [\text{g}\cdot\text{l}^{-1}]$
Aróniový koncentrát	676,691	Citrónová	43,34
Víno	69,300	Vinná	4,63
Nápoj 4898	70,224	Vinná	5,27
Nápoj 1848	29,232	Vinná	1,96
Nápoj 2315	35,616	Vinná	2,67
Nápoj 2255	49,392	vinná	3,71
Nápoj 8954	48,510	vinná	3,64
Nápoj 2116	39,600	vinná	2,97
Nápoj 9798	64,020	vinná	4,80
Nápoj 2161	60,816	Vinná	4,56
Nápoj 9820	59,136	Vinná	4,44
Nápoj 1871	55,440	Vinná	4,16
Strongbow černý rybíz	59,400	Jablečná	3,98
Frisco brusinka	58,740	Citrónová	3,76

V Tabulka 10 jsou uvedené hodnoty titrační kyselosti pro jednotlivé analyzované složky nápoje a samotné nápoje. Titrační kyselost aróniového koncentrátu vztažená na kyselinu citrónovou činí  $43,34 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ .

U vína je titrační kyselost vztažená na kyselinu vinnou  $4,63 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Jedná se tedy o víno s nižším obsahem kyselin, neboť odborná literatura uvádí jako průměrnou hodnotu titrovatelných kyselin rozmezí 5 až  $6 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Toto víno bylo senzorycky vyhodnoceno jako nejchutnější pro přípravu kombinovaného nápoje. Pokud by v budoucnu nebyl dodržen stejný dodavatel vína, je alespoň nutno brát vína s nižší kyselostí, aby nebyla narušena výsledná chuť.



U kombinovaných nápojů se titrační kyselost pohybovala v rozmezí 1,96 až 5,27 g·l<sup>-1</sup> v závislosti na složení nápoje. Nápoj 4898 má nejvyšší titrační kyselost z připravovaných kombinovaných nápojů. Má ji ještě vyšší než samotné víno, což je dáno jeho složením: 30 % vína a 8 % aróniového koncentráту. Další nápoje obsahovaly arónie menší množství.

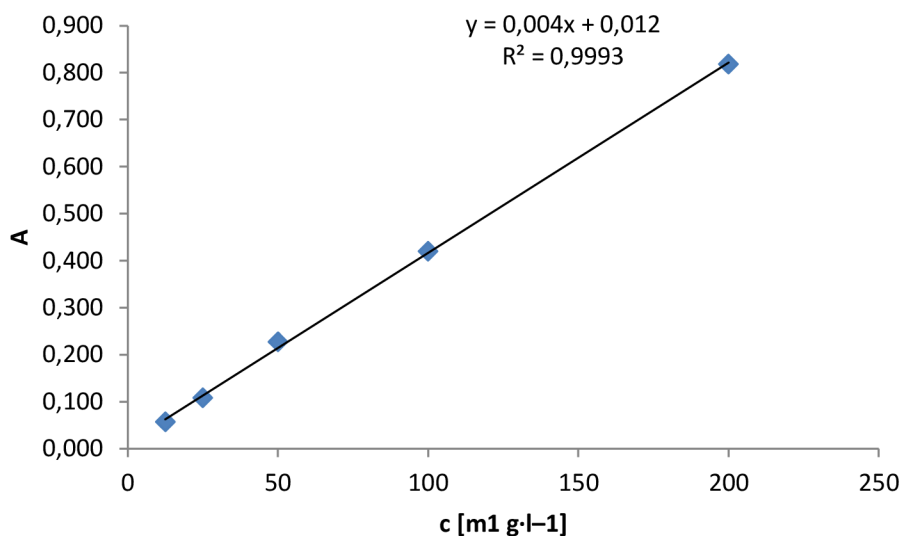
Nejnižší titrační kyselost byla stanovena u nápoje 1848, který obsahoval kromě 30 % vína pouze 1 % aróniového koncentráту.

I když nápoje 2161, 9820 a 1871 obsahovaly jen 1 % aróniového koncentráту a 30 % vína, byla jejich titrační kyselost vyšší. Byla ovlivněna přítomností další ovocné složky.

Majoritní kyseliny komerčních nápojů byly vybírány podle složení popsaných na etiketách nápojů. Složení jednotlivých nápojů jsou uvedena v kapitole 2.6. Oba komerční nápoje obsahují téměř stejné zastoupení kyselin. Strongbow černý rybíz obsahuje kyselinu jablečnou a Frisco brusinka obsahuje kyselinu citrónovou.

### 3.1.3 Stanovení fenolických kyselin pomocí Folin–Ciocalteuova činidla

Fenolické kyseliny byly stanoveny spektrofotometricky. Podrobný postup je popsán v kapitole 2.3.3. Veškeré vzorky byly proměřeny 3krát a byl vypočten průměr. Koncentrace fenolických kyselin byla vypočtena z kalibrační přímky kyseliny gallové, která je uvedena níže v Graf 1.



Graf 1 Kalibrační přímka pro stanovení fenolických kyselin

Fenolické kyseliny byly stanoveny u aróniového koncentráту, vína, kombinovaných nápojů a komerčních nápojů. Veškeré vzorky byly před samotným měřením podle potřeby zředěny. V Tabulka 11 jsou uvedeny výsledky stanovení.

Tabulka 11 Stanovení fenolických kyselin u analyzovaných vzorků

Vzorek	c [g·l <sup>-1</sup> ]
<b>Aróniový koncentrát</b>	37,56
<b>Víno</b>	1,08
<b>Nápoj 4898</b>	2,31
<b>Nápoj 1848</b>	0,54
<b>Nápoj 2315</b>	1,16
<b>Nápoj 2255</b>	0,46
<b>Nápoj 8954</b>	1,12
<b>Nápoj 2116</b>	1,18
<b>Nápoj 9798</b>	1,44
<b>Nápoj 2161</b>	0,80
<b>Nápoj 9820</b>	0,57
<b>Nápoj 1871</b>	0,61
<b>Strongbow černý rybíz</b>	0,25
<b>Frisco brusinka</b>	0,27

Nejvíce fenolických kyselin obsahuje aróniový koncentrát, a to v množství 37,56 g·l<sup>-1</sup>. Víno obsahuje 1,08 g·l<sup>-1</sup>, což je na dolní hranici hodnot uváděných v literatuře [3]. Bílé víno obecně neobsahuje příliš mnoho fenolických látek. Proto jejich obsah vyšší než 1,08 g·l<sup>-1</sup> je dán přítomností ovocné složky.

Připravené kombinované nápoje obsahují fenolické kyseliny v rozsahu 0,46–2,31 g·l<sup>-1</sup>, přičemž opět závisí na složení jednotlivých nápojů. Nejvíce fenolických kyselin obsahoval nápoj 4898, což je nápoj s 8 % aróniového koncentrátu a bez přídavné okyselující složky. Z nápojů, které byly připraveny na senzorickou analýzu přídavných látek (nápoje 1848, 2315, 2255 a 8954), obsahuje nejvíce fenolických kyselin nápoj 2315, do kterého byl přidán pouze vitamin C. Z nápojů, které mimo čistého aróniového koncentrátu obsahovaly ještě přídavek jiného ovoce (nápoje 2161, 9820 a 1871), obsahoval nejvíce fenolických kyselin nápoj 2161 doplněný ještě brusinkou.

Vybrané komerční nápoje obsahují opět podobné množství fenolických kyselin. Oproti připravovanému nápoji obsahují komerční nápoje 2krát až 8krát méně fenolických kyselin.

### 3.1.4 Stanovení anthokyanových barviv v analyzovaných vzorcích

Anthokyanová barviva byla stanovena spektrofotometricky. Podrobný postup je uveden v kapitole 2.3.4. Veškeré vzorky byly analyzovány třikrát a byl vypočten průměr. Pro stanovení anthokyanových barviv bylo nutné vzorky zředit. Aróniový koncentrát byl ředěn 1000krát, ostatní vzorky byly ředěny 10krát. Vypočtené koncentrace jednotlivých vzorků uvádí Tabulka 12.

Tabulka 12 Naměřené hodnoty pro stanovení anthokyanových barviv

Vzorek	$c_{mp}[\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}]$
<b>Aróniový koncentrát</b>	42,86
<b>Víno</b>	0,06
<b>Nápoj 4898</b>	4,34
<b>Nápoj 1848</b>	0,08
<b>Nápoj 2315</b>	0,09
<b>Nápoj 2255</b>	0,67
<b>Nápoj 8954</b>	0,39
<b>Nápoj 2116</b>	0,61
<b>Nápoj 9798</b>	0,67
<b>Nápoj 2161</b>	12,25
<b>Nápoj 9820</b>	12,14
<b>Nápoj 1871</b>	10,13
<b>Strongbow černý rybíz</b>	2,06
<b>Frisco brusinka</b>	0,45

Aróniový koncentrát obsahoval  $42,86 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  anthokyanových barviv. Proti červeným vínům, která obsahují 200 až  $500 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  těchto pigmentů, je to hodnota poměrně nízká, zejména jedná-li se o koncentrát šťávy [3]

Bílé víno obsahuje podle literatury pouze stopové množství tohoto pigmentu. Tomu odpovídá nalezená hodnota  $0,06 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  [3].

Obsah těchto barviv v připravených kombinovaných nápojích se pohyboval v rozmezí 0,08 až  $12,25 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Nápoj 4898, s 8 % aróniového koncentrátu, obsahoval nejvyšší množství anthokyanů v rámci nápojů bez další ovocné složky.

Z připravovaných nápojů obsahovaly nejvíce anthokyanových barviv ty, které obsahovaly přídavek jiného ovoce. Tedy nápoj 2161, který kromě arónie obsahoval ještě brusinku.

Z komerčních nápojů obsahoval více anthokyanových barviv Strongbow černý rybíz, a to v množství  $2,06 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Frisco brusinka obsahoval  $0,45 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

### 3.1.5 Stanovení cukrů pomocí HPLC

Podmínky chromatografické analýzy pro stanovení sacharidů jsou popsány v kapitole 2.4. Jednotlivé výsledky uvádí Tabulka 13. Byly stanoveny sacharidy glukóza (glu) a fruktóza (fru). Retenční čas fruktózy se pohyboval kolem 7,8 min a retenční čas glukózy byl kolem 10,3 min.

Tabulka 13 Stanovení sacharidů pomocí HPLC s ELSD detektorem

Vzorek:	$c_{glu} [g \cdot l^{-1}]$	$c_{fru} [g \cdot l^{-1}]$	$c [g \cdot l^{-1}]$
víno	0,08	0,26	0,34
Nápoj 4898	5,27	5,69	10,97
Nápoj 1848	4,62	4,97	9,59
Nápoj 2315	4,64	5,03	9,67
Nápoj 2255	4,71	4,91	9,62
Nápoj 8954	4,53	4,85	9,38
Nápoj 2116	3,76	3,97	7,73
Nápoj 9798	6,87	7,56	14,43
Nápoj 2161	4,23	4,49	8,73
Nápoj 9820	4,32	4,74	9,05
Nápoj 1871	4,39	4,85	9,24
Strongbow černý rybíz	3,86	3,45	7,31
Frisco brusinka	< 0,02	2,80	–

Víno obsahovalo  $0,34 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  celkových cukrů. Poměr zbytkové glukózy a fruktózy je v souladu s literaturou [3].

Všechny analyzované vzorky obsahovaly přibližně srovnatelná množství fruktózy a glukózy. U kombinovaných nápojů se celkové cukry pohybovaly v rozmezí  $7,73\text{--}14,43 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Tyto hodnoty jsou dány především použitím RMK jako sladící složky, jejíž obsah se v analyzovaných nápojích pohyboval v rozmezí 9 až 19 %. Nejvíce cukrů obsahoval nápoj 9798, který byl slazen 19 % RMK. Nejméně cukrů obsahoval nápoj 2116, který byl také nejméně přislazen RMK.

Komerční nápoj Strongbow černý rybíz obsahoval  $7,31 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  glukózy a fruktózy. To je srovnatelné množství jako v připravovaných kombinovaných nápojích.

Prodáváný nápoj Frisco brusinka je vyráběn ze sladu. Proto obsahoval pouze  $2,80 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  fruktózy a stopové množství glukózy. Na chromatogramu byl nalezen ještě jeden, majoritní pík, který odpovídal pravděpodobně maltóze.

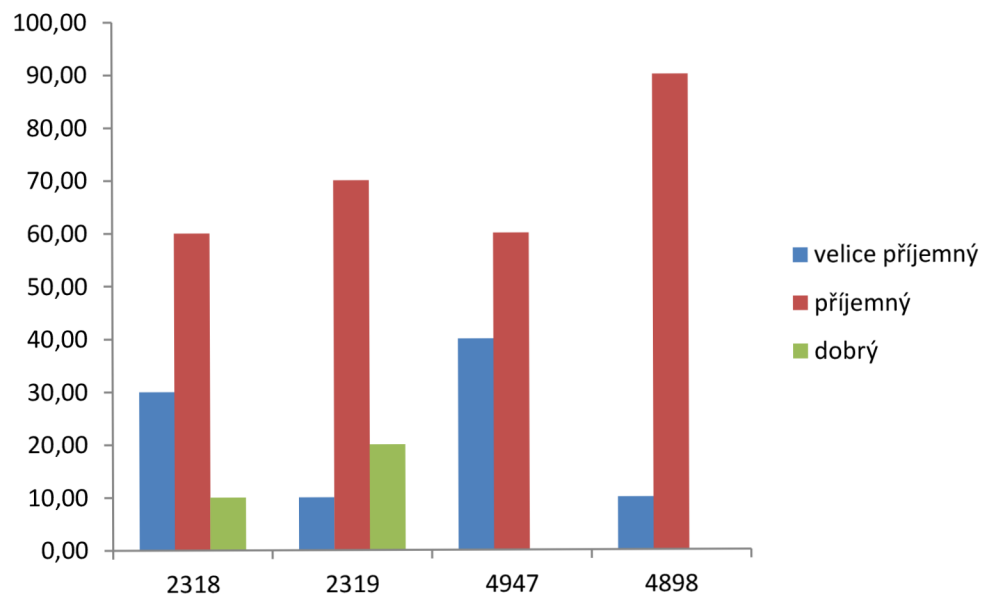
## 3.2 Senzorické hodnocení kombinovaných nápojů

### 3.2.1 Výběr vhodného vína

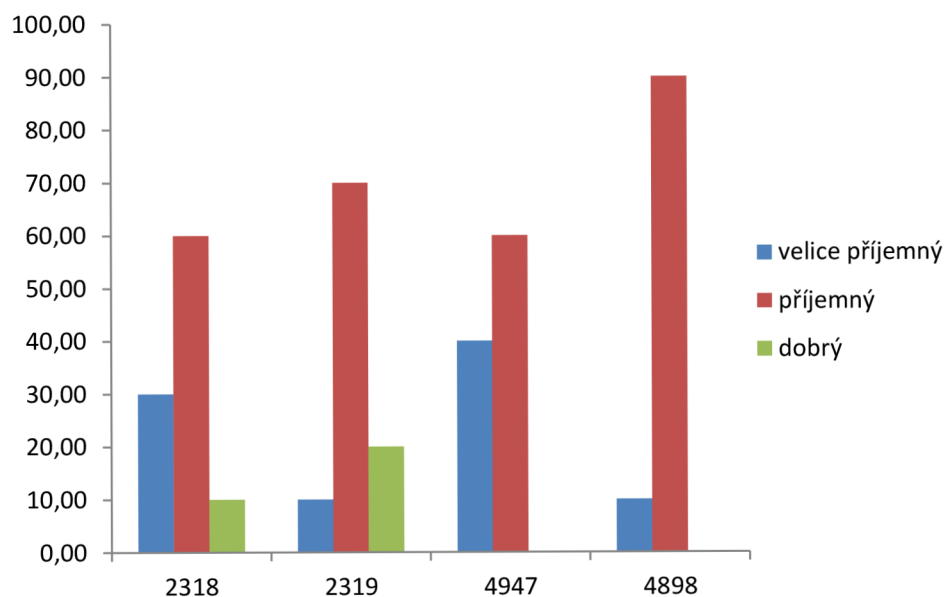
Vzhledem k tomu, že chuť kombinovaného nápoje je ovlivňována použitými složkami, bylo nutné sensoricky určit víno vhodné pro připravovaný nápoj. Kombinovaný nápoj byl připraven ze 4 různých odrůd bílého vína, přičemž u každého kombinovaného nápoje bylo použito stejné složení. Složení nápoje uvádí Tabulka 4 v kapitole 0. Označení jednotlivých nápojů s použitým vínem uvádí Tabulka 5 v kapitole 1.1.

Hodnotitelé měli za úkol zhodnotit intenzitu barvy, čirost nápoje, vůni, celkový vzhled nápoje a chuť nápoje.

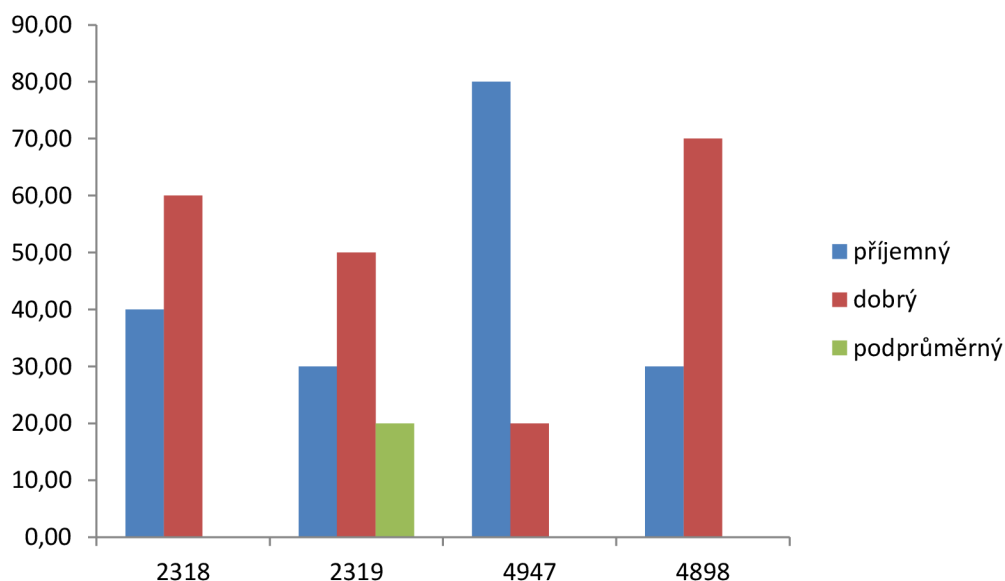
Tohoto hodnocení se účastnily pouze ženy. Všechny hodnotitelky měly kladný vztah k alkoholu a občas ho konzumují. Hodnotitelky preferovaly nejvíce víno, na druhém místě pak cidery a míchané nápoje.



Graf 2 hodnocení intenzity barvy jednotlivých nápojů

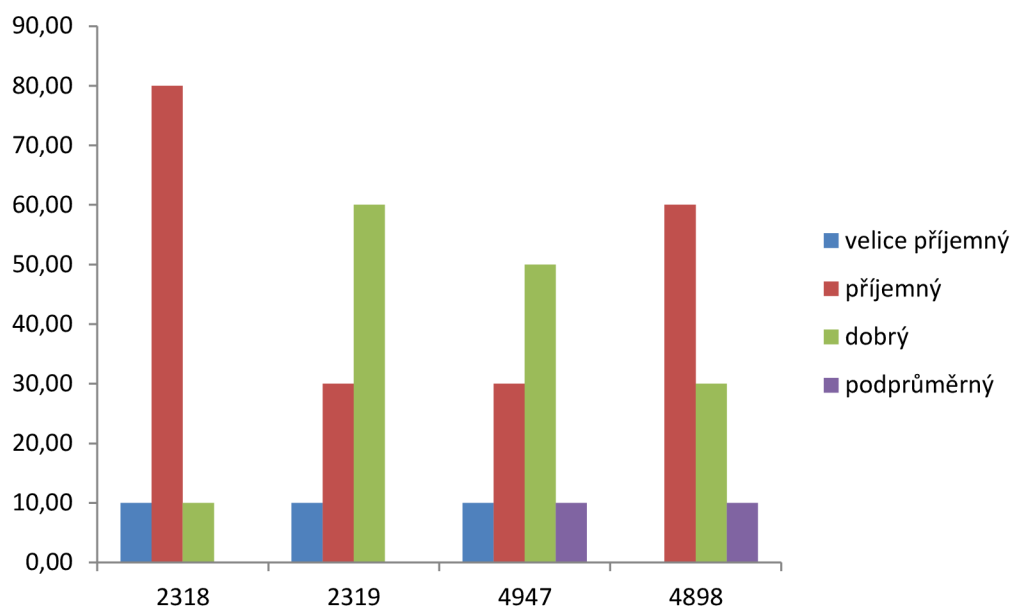


Na Graf 2 je uvedeno hodnocení intenzity barvy předložených nápojů. Všechny nápoje byly hodnoceny jako „příjemné“. Nejvíce „příjemný“ nápoj byl nápoj 4898. U žádných z nápojů nebyla intenzita barvy hodnocena negativně.



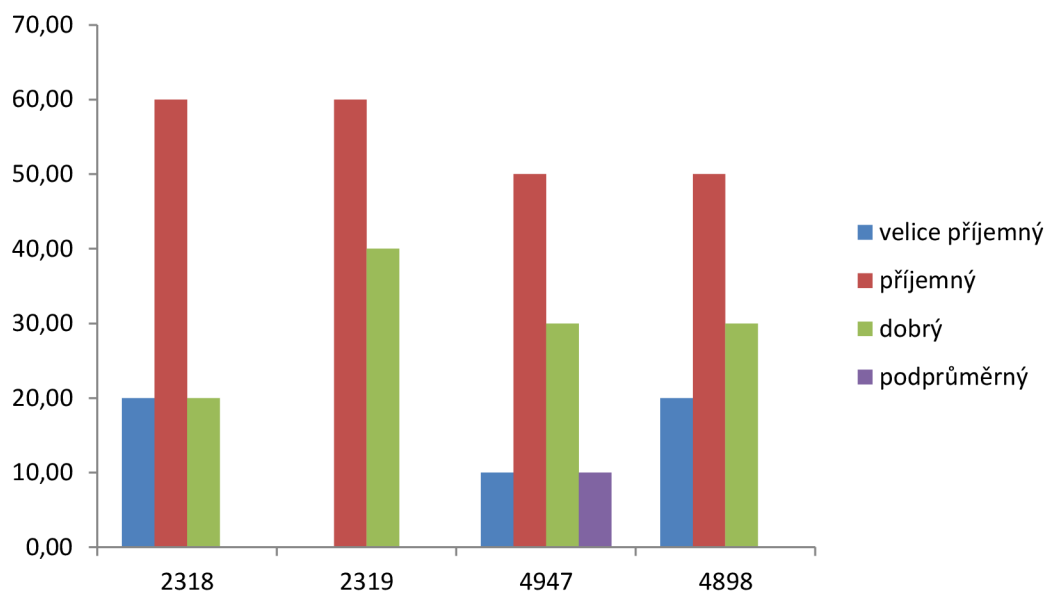
Graf 3 Hodnocení čirosti nápojů

Graf 3 uvádí hodnocení čirosti jednotlivých nápojů. Čirost u veškerých nápojů byla nejlépe hodnocena jako „příjemná“. Nejvíce „příjemný“ nápoj byl nápoj 4947. Naopak jako podprůměrný nápoj byl u některých hodnotitelů považován nápoj 2319.



Graf 4 Hodnocení vůně nápojů

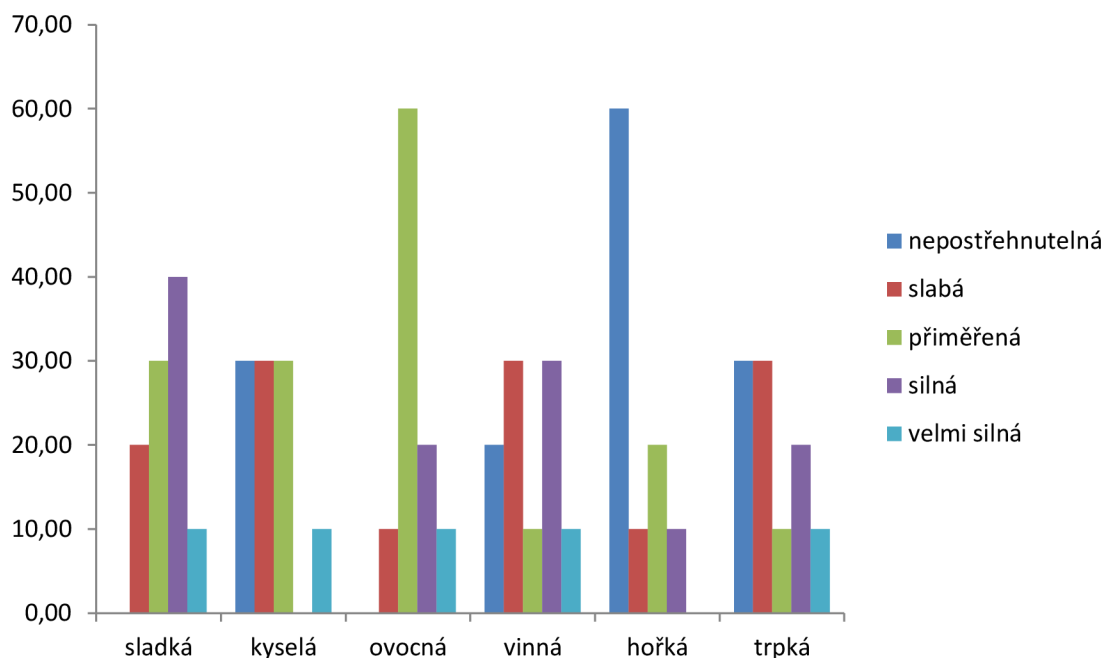
Na Graf 4 je uvedeno hodnocení vůně nápojů. Nejlépe hodnocený nápoj byl nápoj 2318 a 4898. Tyto nápoje byly hodnoceny jako „příjemné“. Naopak nápoje 2319 a 4947 byly hodnoceny jako „dobré“. Žádný z nápojů nebyl hodnocen jako „nevyhovující“.



Graf 5 Hodnocení celkového vzhledu nápojů

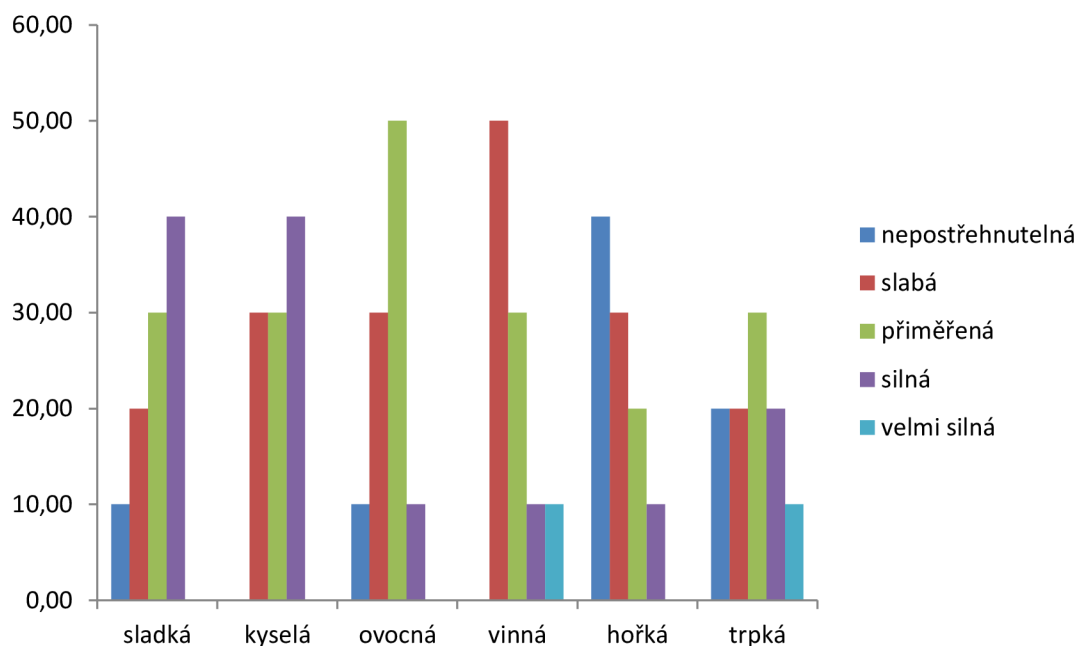
Graf 5 uvádí hodnocení celkového vzhledu nápoje. Veškeré předložené nápoje byly nejvíce hodnoceny jako „příjemné“.

Hodnocení chutě jednotlivých nápojů uvádí Graf 6 až Graf 9.



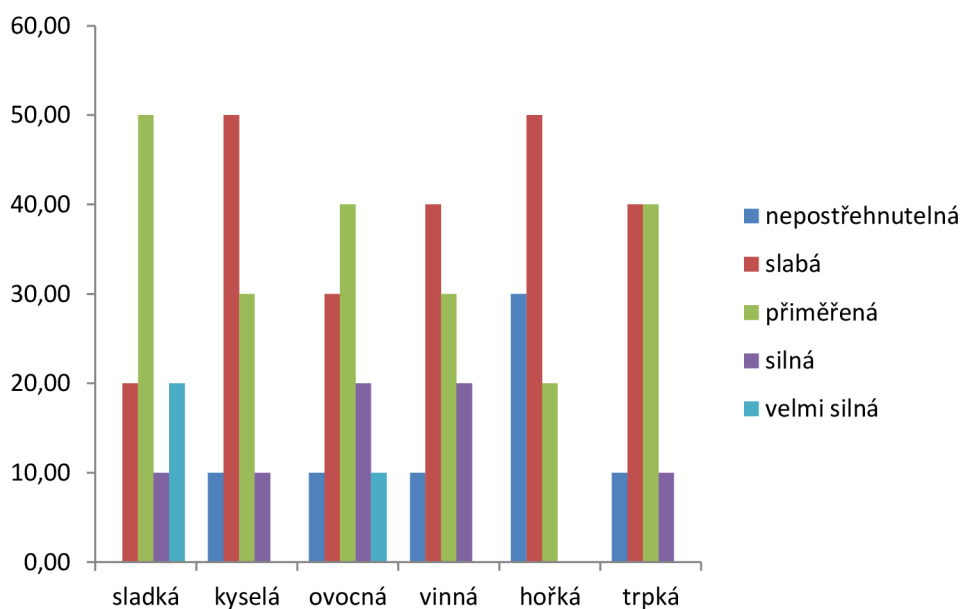
Graf 6 Hodnocení chutě nápoje 2318

U nápoje 2318 byla hořká chuť nepostřehnutelná. Ovocná chuť byla přiměřená. Sladká chuť byla hodnocena jako silná.



Graf 7 Hodnocení chutě nápoje 2319

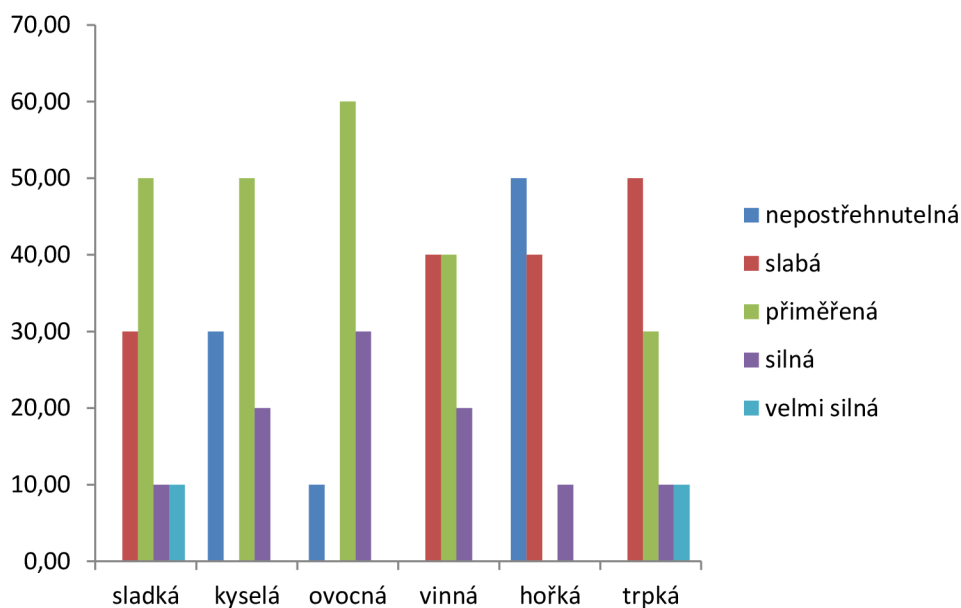
U nápoje 2319 byly chutě sladká a kyselá hodnoceny jako „silné“. Ovocná a trpká chuť zde byla přiměřená. Vinná chuť byla slabá. Hořká chuť byla zde nepostřehnutelná.



Graf 8 hodnocení chutě nápoje 4947

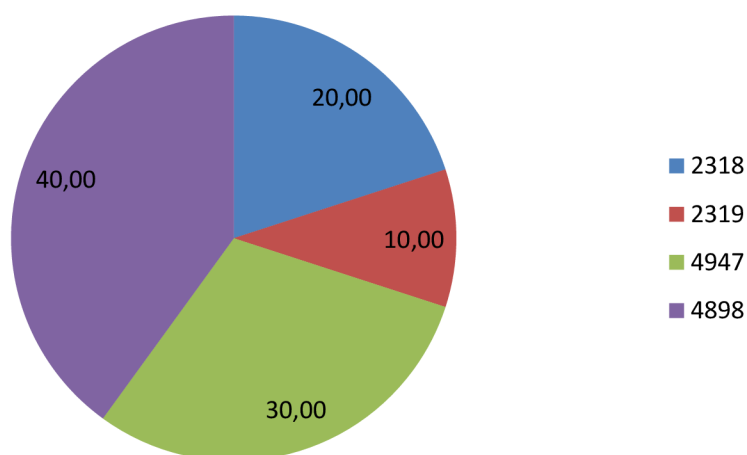
Sladká a ovocná chuť byla u tohoto nápoje přiměřená. Chutě kyselá, ovocná, vinná a hořká byly zde cítit slabě. Trpká chuť byla pro některé hodnotitele cítit slabě a někteří ji hodnotili jako přiměřenou.





Graf 9 hodnocení chutě nápoj 4898

U tohoto nápoje byly chutě sladká, kyselá a ovocná hodnoceny jako přiměřené. Chuť hořká zde byla nepostřehnutelná. Chuť trpká byla slabá. Vinná chuť se zdála některým hodnotitelům jako slabá, dalším jako přiměřená.



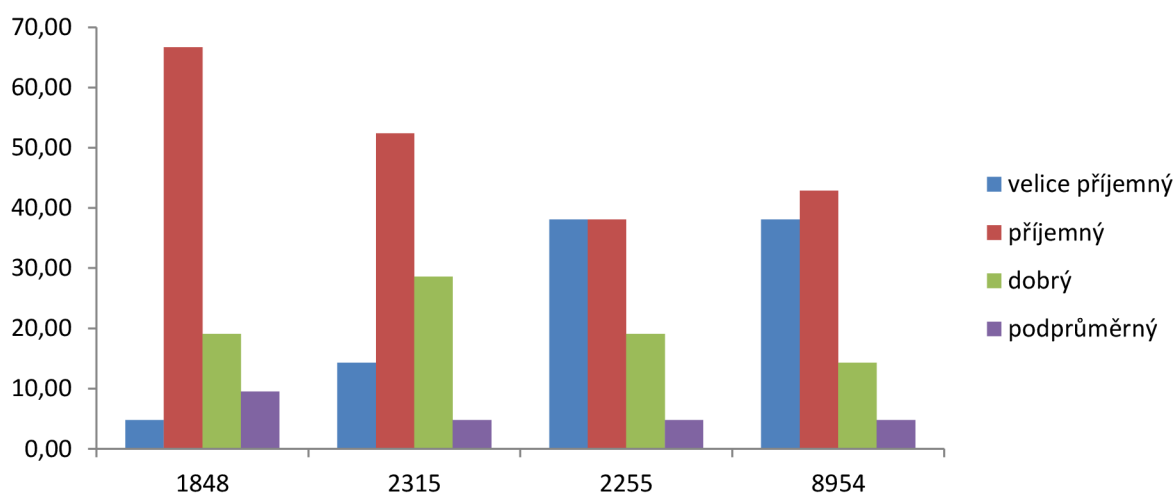
Graf 10 Hodnocení vhodnosti vína pro přípravu kombinovaného nápoje

Na Graf 10 je uvedena preferovanost předložených nápojů. Nejvíce preferovaný nápoj byl celkově hodnocen nápoj 4898, který byl připraven z vína směr. Celkově byly hodnoceny nápoje kladně. Některé hodnotitelky by preferovaly méně trpké nápoje.

### 3.2.2 Senzorické hodnocení přídatných látek

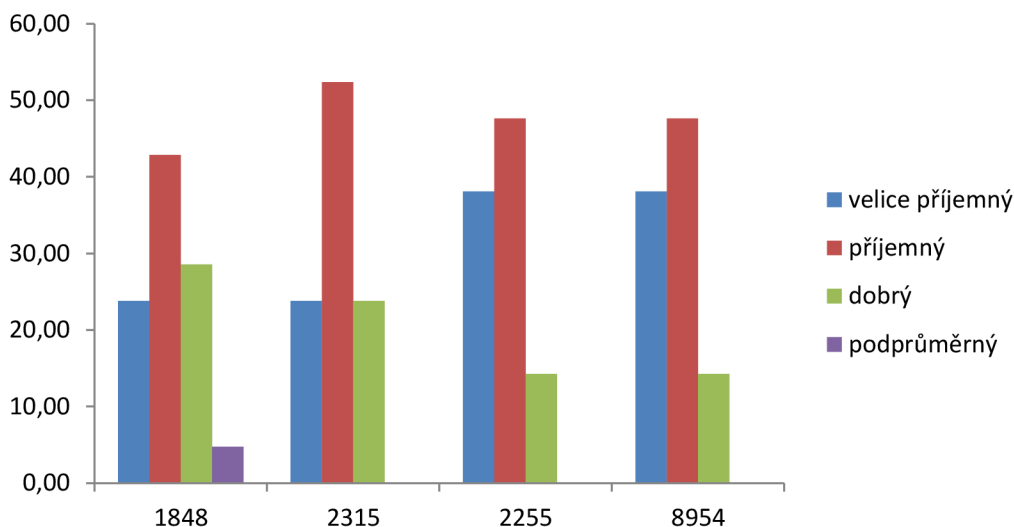
Účelem tohoto sensorického hodnocení bylo stanovit preferovanost nápoje obohaceného buď o vitamin C nebo o kyselinu citronovou, případně o obě složky. Vzhledem k tomu, že původní nápoj, který obsahoval 8 % aróniového koncentrátu měl velmi tmavou barvu, byl obsah aróniového koncentrátu snížen na 1 % dle přání zadavatele výzkumu. Jednotlivé složení nápojů uvádí Tabulka 6 v kapitole 2.5.

Tohoto hodnocení se opět účastnily pouze ženy. Hodnocení bylo opět zaměřeno na intenzitu barvy, čirost, vůni, celkový vzhled a chuť nápojů. Téměř všechny hodnotitelky měly kladný vztah k alkoholu. Hodnotitelky preferovaly jako alkoholický nápoj víno a poté cidery a míchané nápoje.



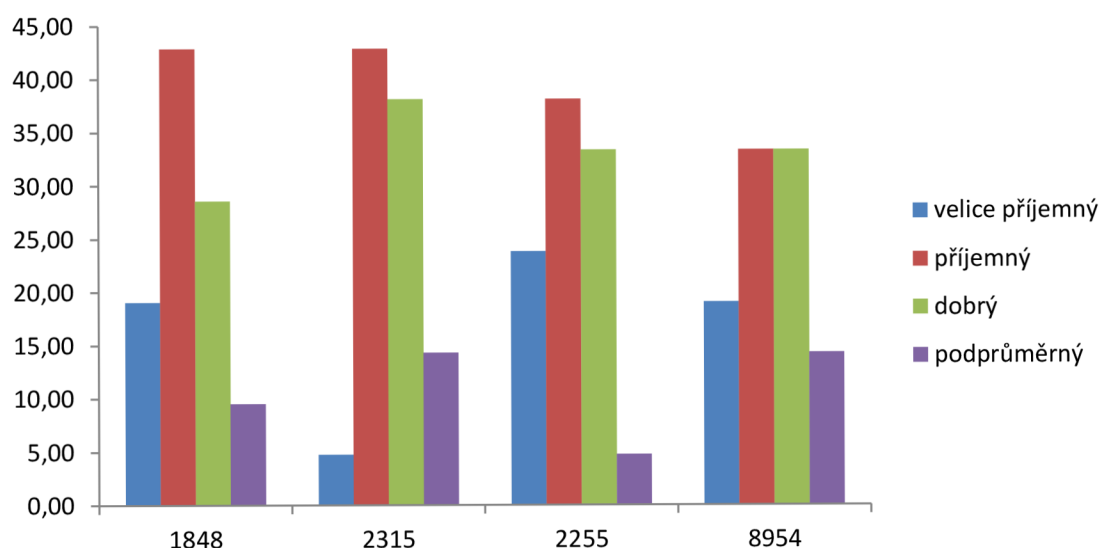
Graf 11 Hodnocení intenzity barvy

Veškeré nápoje připadaly hodnotitelům příjemné. Nejvíce příjemnou intenzitu barvy měl nápoj 1848 a poté hned nápoj 2315. Nápoj 2255 se zdál některým hodnotitelům velice příjemný a některým pouze příjemný. Výsledky uvádí Graf 11.



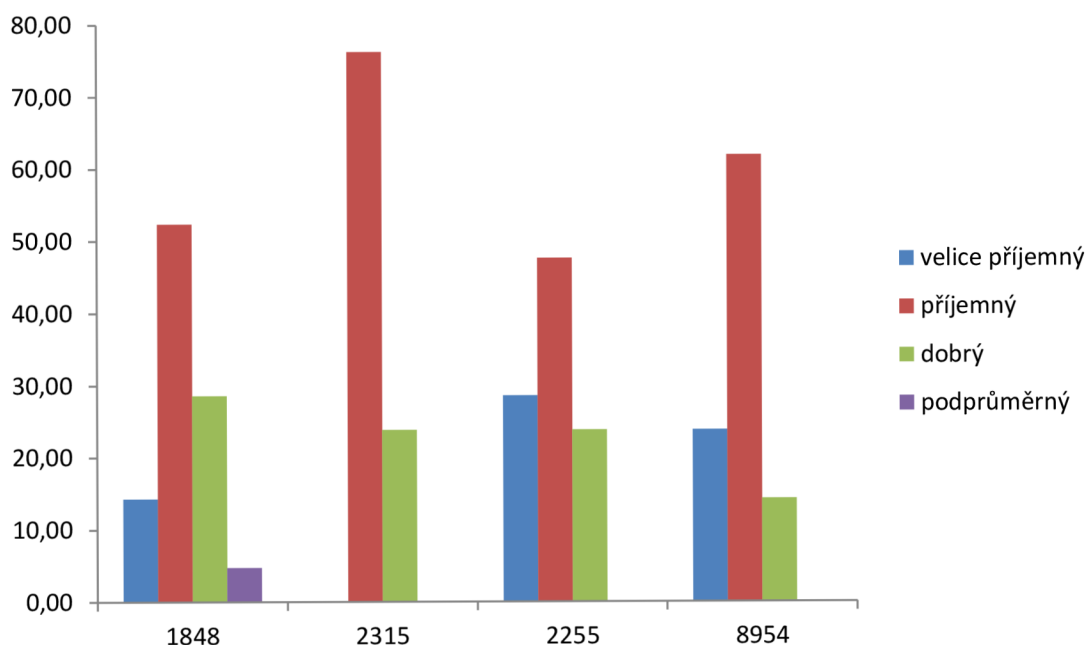
Graf 12 Hodnocení čirosti nápojů

Čiřrost nápojů byla zde hodnocena jako „přijemná“. Všechny předložené nápoje měly velice podobné hodnocení. Nápoj 1848 byl některými hodnotiteli hodnocen jako podprůměrný. Veškeré výsledky uvádí Graf 12.



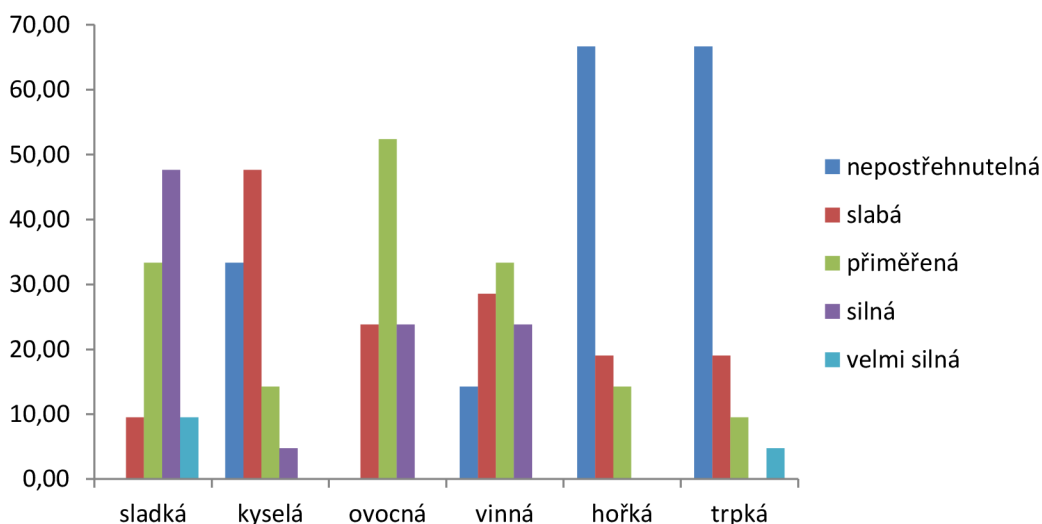
Graf 13 Hodnocení vůně nápojů

Vůně nápojů byla opět hodnocena nejvíce pouze jako „přijemná“. Nejvíce příjemný nápoj byl nápoj 2315. Jednotlivé hodnocení uvádí Graf 13.



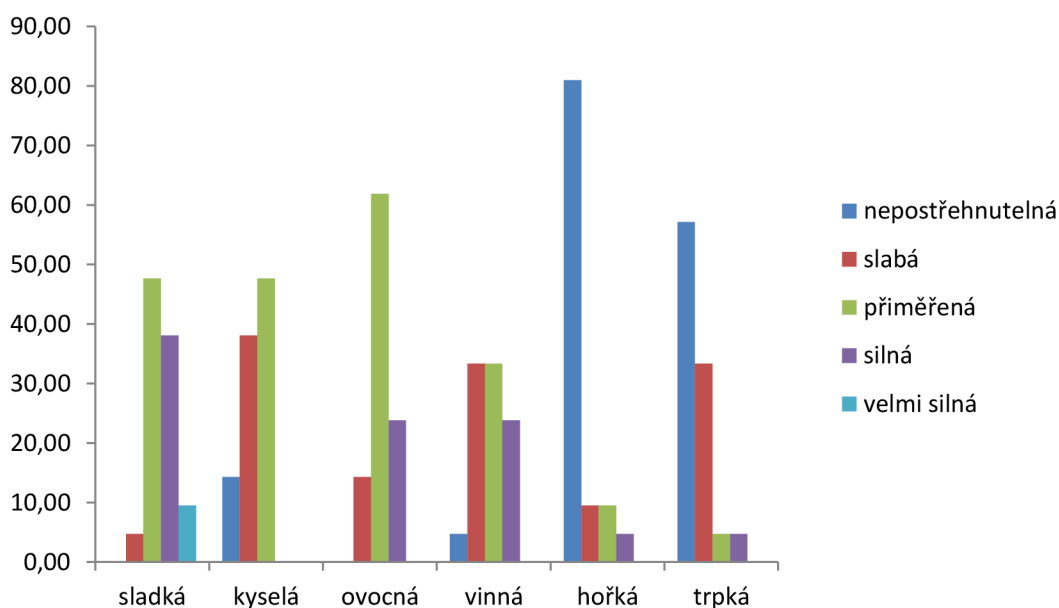
Graf 14 Hodnocení celkového vzhledu nápojů

Veškeré předložené nápoje byly hodnoceny jako „přijemné“. Nejvíce příjemný nápoj byl nápoj 2315. Jednotlivá hodnocení uvádí Graf 14.



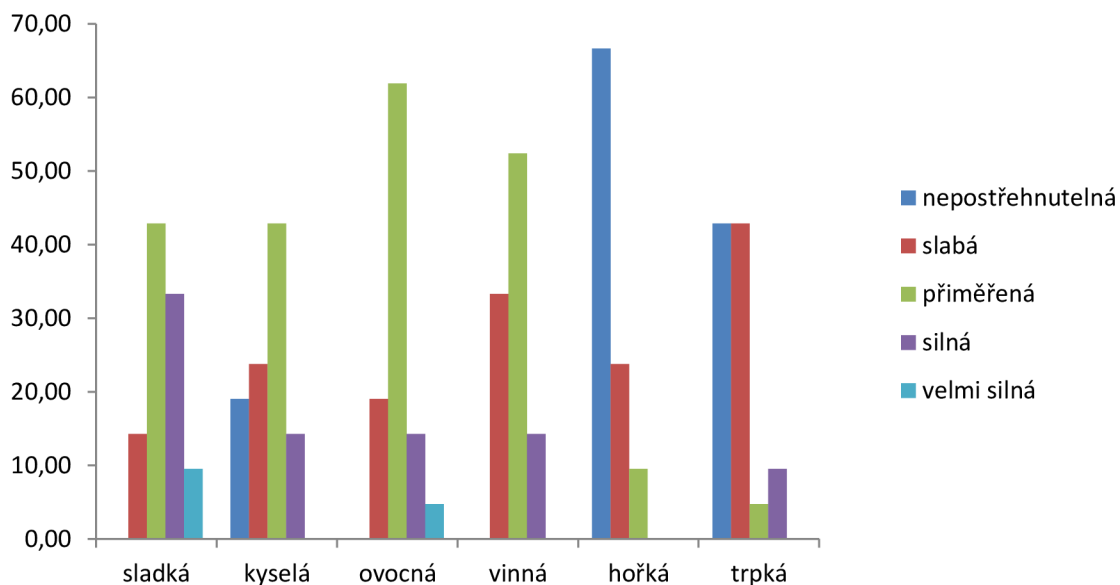
Graf 15 Hodnocení chuti nápoje 1848

U hodnocení chuti nápoje 1848 byly chutě hořká a trpká nepostřehnutelné. Chutě vinná a ovocná byly přiměřené. Kyselá chuť byla slabá a sladká chuť byla silná. Veškeré hodnocení uvádí Graf 15.



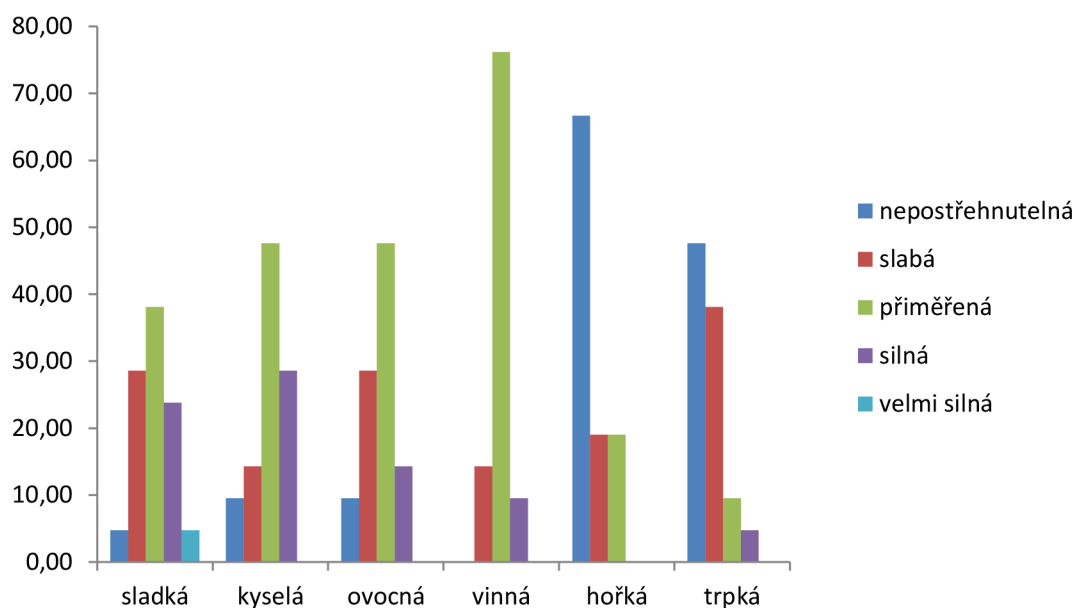
Graf 16 Hodnocení chuti nápoje 2315

U nápoje 2315 byly chutě hořká a trpká nepostřehnutelné. Chutě ovocná, kyselá a sladká zde byly cítit přiměřeně. Chuť vinná se zdála některým hodnotitelům slabá a některým přiměřená. Jednotlivá hodnocení uvádí Graf 16.



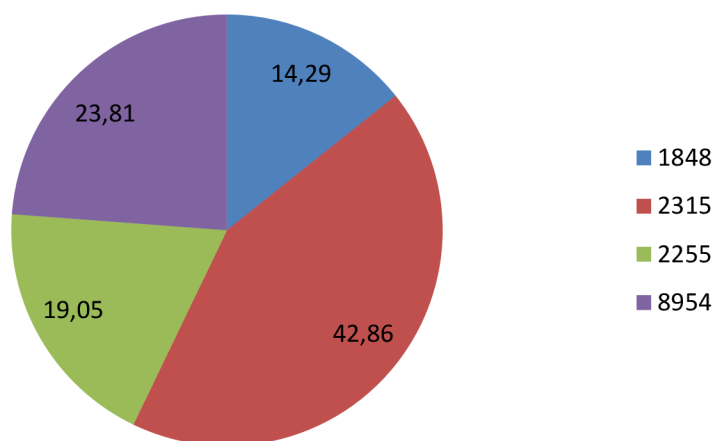
Graf 17 Hodnocení chuti nápoje 2255

U nápoje 2255 byla chuť hořká nepostřehnutelná. Chutě vinná, ovocná, kyselá a sladká zde byly cítit přiměřeně. Chuť trpká byla pro některé hodnotitele nepostřehnutelná a pro některé slabá. Hodnocení uvádí Graf 17.



Graf 18 Hodnocení chuti nápoje 8954

Chutě hořká a trpká byly u nápoje 8954 nepostřehnutelné. Chutě vinná, ovocná, kyselá a sladká zda byly cítit přiměřeně. Graf 18 uvádí jednotlivé hodnocení tohoto nápoje.



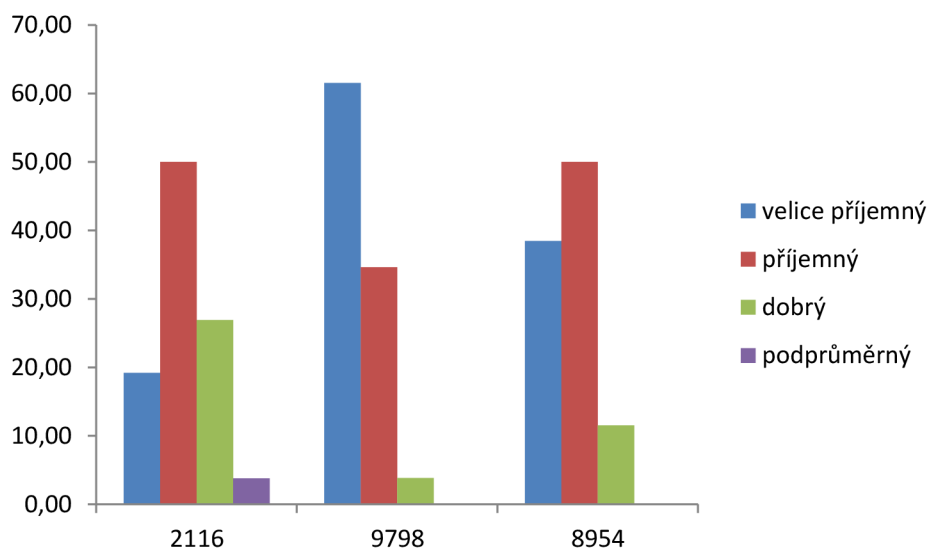
*Graf 19 Celkové hodnocení přídatných látek použitých k přípravě kombinovaného nápoje*

Na Graf 19 je uvedeno, který nápoj byl nejvíce preferovaný. Tímto nápojem byl nápoj 2315, ke kterému byl přidán pouze vitamin C v množství  $1 \text{ g.l}^{-1}$ . Jako druhý nejlepší byl vyhodnocen nápoj 8954, který obsahoval jak vitamin C, tak i kyselinu citrónovou.

### **3.2.3 Senzorické hodnocení nejlepšího kombinovaného nápoje**

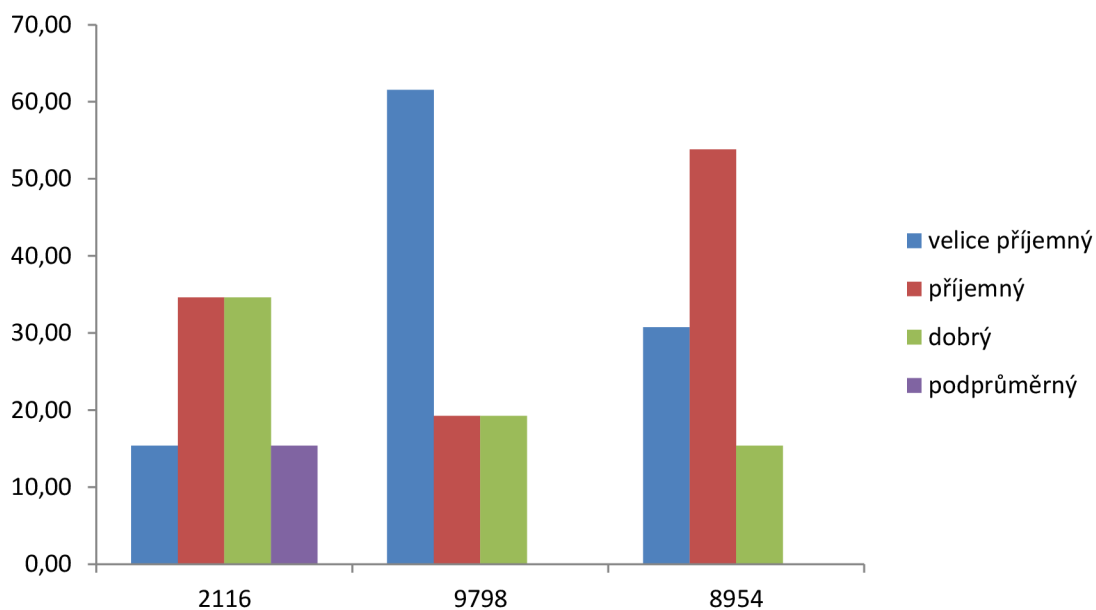
Na přání objednatele výzkumu byla upravena barva nápoje. Obsah 8 % ovocné složky byl redukován na 1 %, aby byla barva nápoje světlejší. Díky tomu se změnila chuť nápoje a bylo nutno opravit obsah ostatních složek kombinovaného nápoje, tj. vody, vína a RMK. Jako aditivum byla použita kyselina citrónová a vitaminu C v množství 1 a  $2 \text{ g.l}^{-1}$ .

Hodnotitelé měli za úkol zhodnotit intenzitu barvy, čirost, vůni, celkový vzhled a chuť nápoje. Tohoto hodnocení se účastnili jak ženy, tak muži. Převládaly však ženy. Hodnotitelé měli převážně kladný vztah k alkoholu. Někteří z hodnotitelů alkohol nekonzumovali vůbec, ale převažovali ti, kteří měli kladný vztah k alkoholu. Pokud již hodnotitelé měli kladný vztah k alkoholu, preferovali především víno. Na druhém místě alkoholických nápojů byly cidery a míchané nápoje.



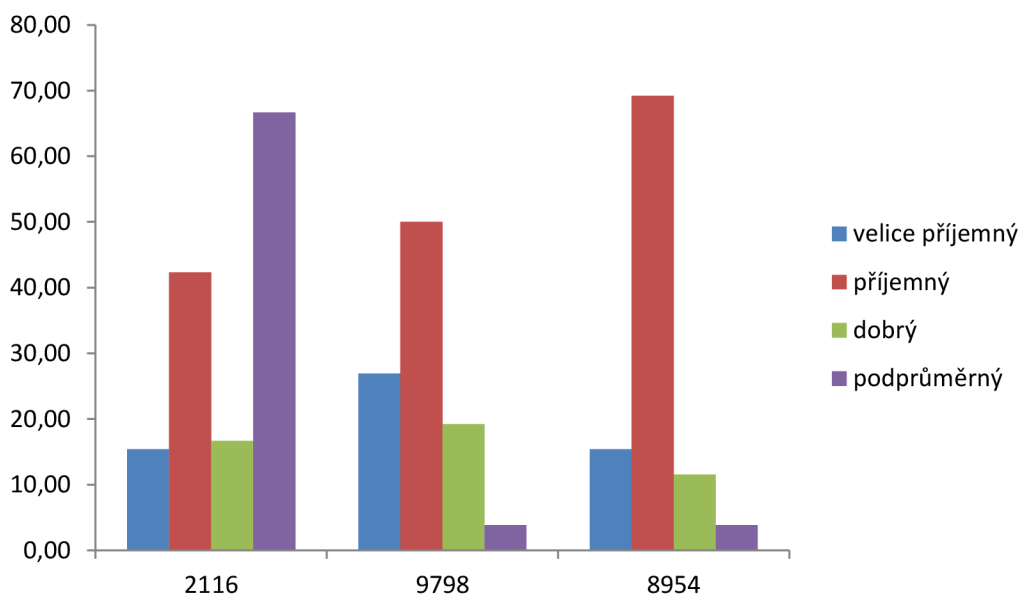
*Graf 20 hodnocení intenzity barvy*

U hodnocení intenzity barvy byl nejvíce příjemný nápoj 9798. Na dalším místě se pak společně umístily nápoje 2116 a 8954. Jednotlivé výsledky hodnocení uvádí Graf 20.



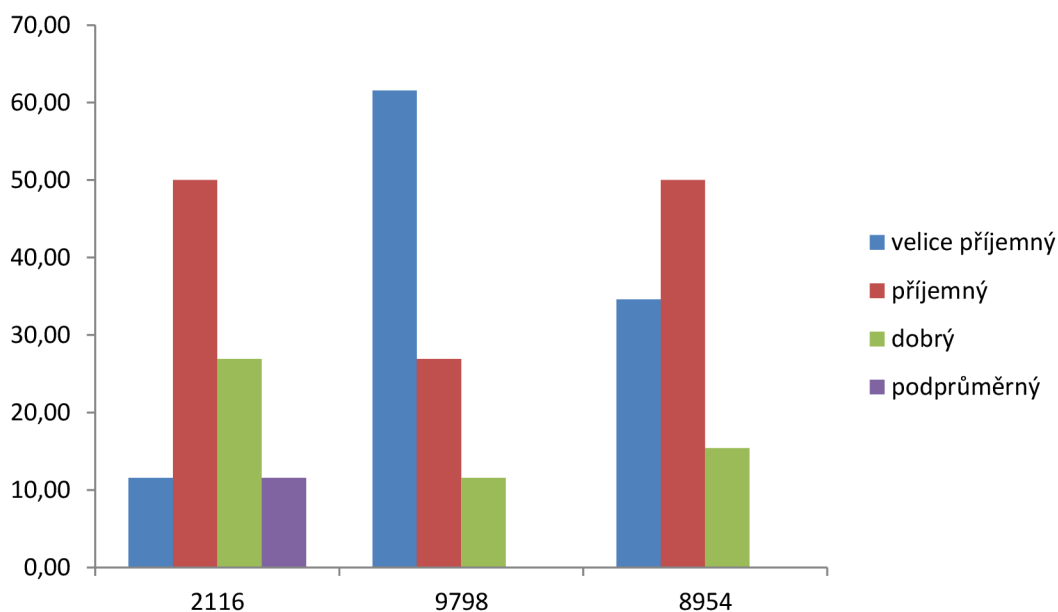
*Graf 21 hodnocení čirosti nápojů*

Hodnocení čirosti nápoje uvádí Graf 21. Nejlépe byl hodnocen nápoj 9798. Na druhém místě pak nápoj 8954.



*Graf 22 Hodnocení vůně nápojů*

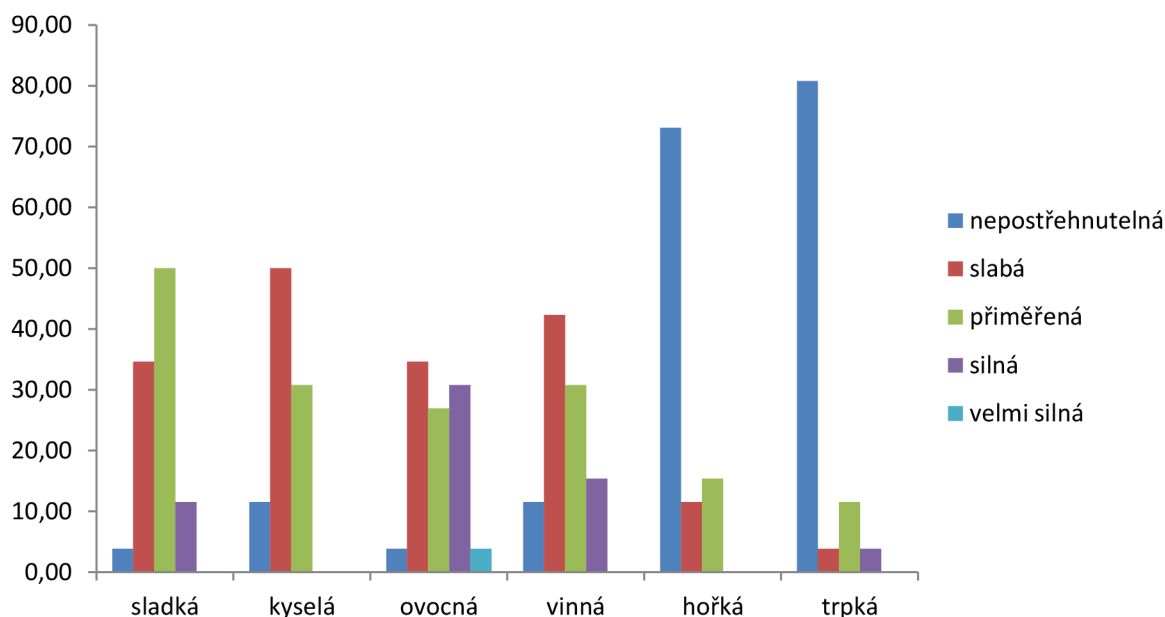
Hodnocení vůně jednotlivých nápojů uvádí Graf 22. U tohoto hodnocení hodnotitelé hodnotili jako velice příjemný nápoj 9798. Většina hodnotitelů však hodnotili nápoje jako „příjemné“. U tohoto hodnocení zvítězil nápoj 8954.



*Graf 23 Hodnocení celkového vzhledu nápojů*

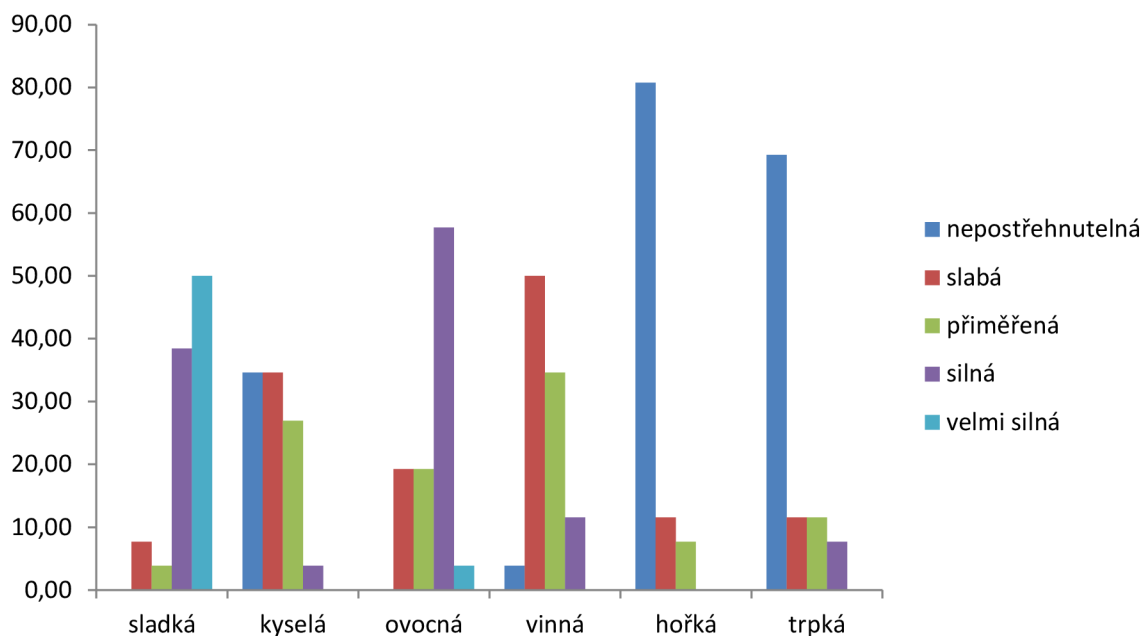
Hodnocení celkového vzhledu nápojů uvádí Graf 23. U tohoto hodnocení byl jako velice příjemný hodnocen nápoj 2319.





Graf 24 Hodnocení chuti nápoje 2116

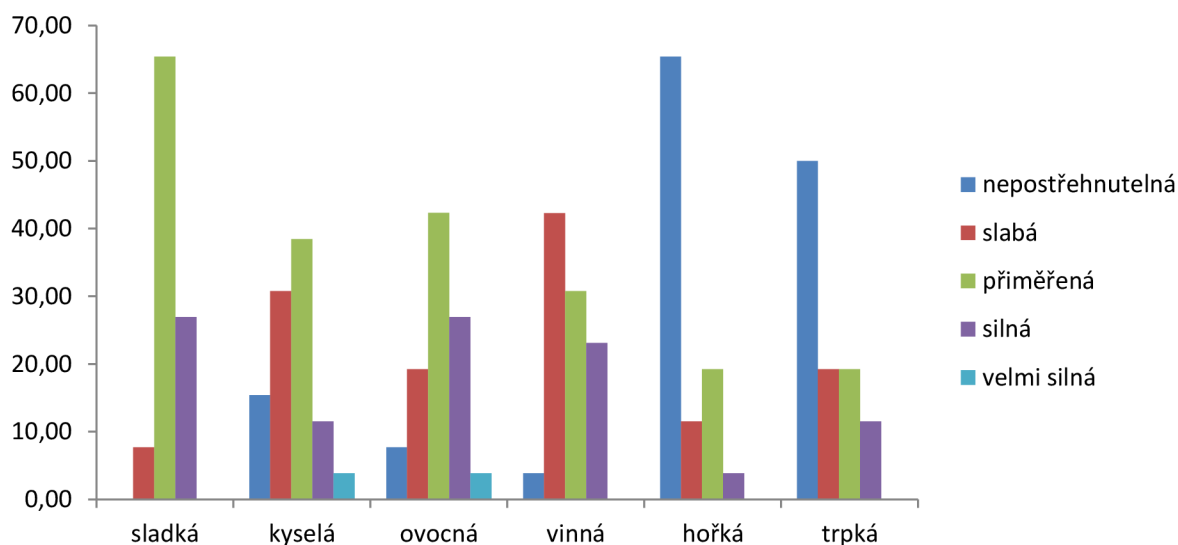
U nápoje 2116 byly chutě trpká a hořká hodnoceny jako nepostřehnutelné. Tento nápoj byl přiměřeně sladký. Slabě cítěny zde byly chutě kyselá, ovocná a vinná. Hodnotitele tento nápoj celkově moc nezaujal. Většině hodnotitelů se zdál být nevýrazný. Výsledky hodnocení uvádí Graf 24.



Graf 25 hodnocení chutě nápoje 9798

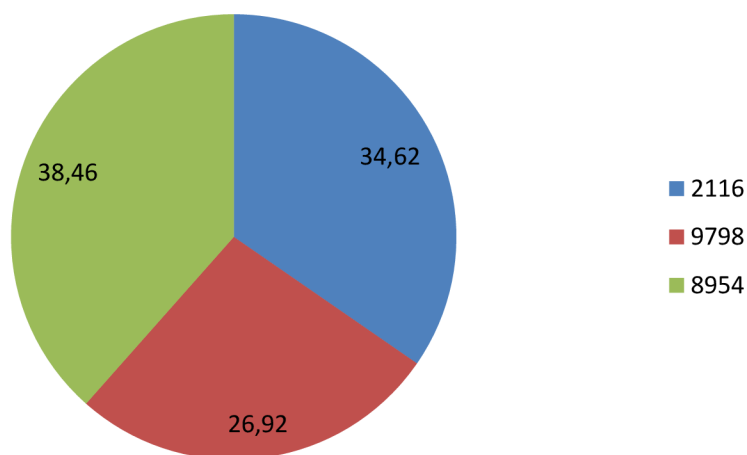
U nápoje 9798 byla nejvíce postřehnutelná chuť sladká. Byla zde hodnocena jako velmi silná. Jako silná chuť zde byla hodnocena chuť ovocná. Jako nepostřehnutelné chutě zde byly hodnoceny chuť hořká a trpká. Jako slabá chuť zde byla hodnocena chuť vinná. Kyselá chuť zde byla hodnocena některými jako nepostřehnutelná a dalšími jako slabá. Celkově

se hodnotitelům tento nápoj zdál být velice sladký. Pro ty, kteří mají rádi sladké nápoje, byl tento nápoj hodnocen kladně. Pro většinu hodnotících byla příliš sladká chuť hodnocena negativně. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Graf 25.



Graf 26 hodnocení chutě nápoje 8954

U nápoje 8954 byly chutě kyselá, ovocná a sladká hodnoceny jako chutě přiměřené. Vinná chuť zde byla cítit slabě. Chuť hořká a trpká byla nepostřehnutelná. Výsledky hodnocení uvádí Graf 26.



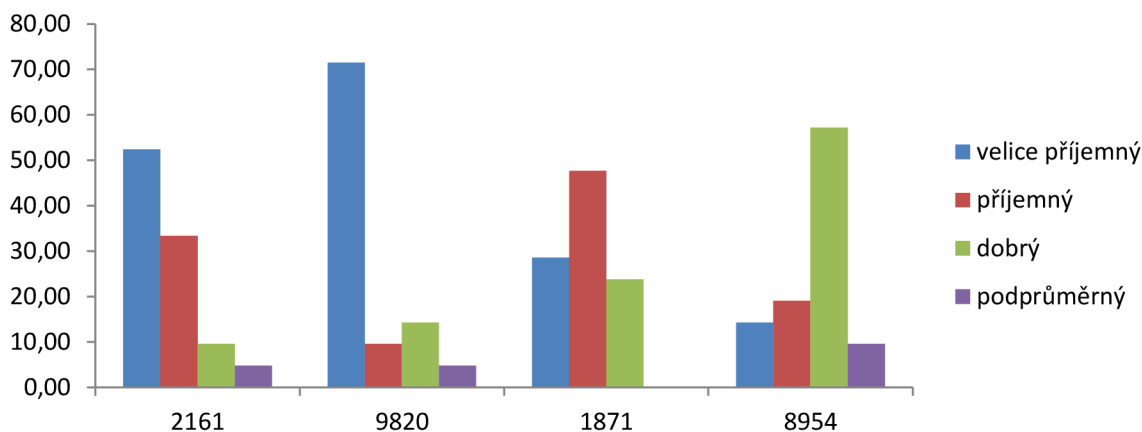
Graf 27 Hodnocení vhodnosti nového složení kombinovaného nápoje

Na Graf 27 jsou uvedeny výsledky preferovanosti nového složení nápoje. Celkově byl nejlépe hodnocen nápoj 8954. Většině hodnotícím se zdály být chutě nejvíce vyvážené. Někteří z hodnotitelů by ocenili, kdyby tento nápoj byl méně sladký. Další by preferovali nápoj, který by se nacházel složením mezi nápoji 2116 a 8954.

### 3.2.4 Hodnocení ovocné složky nápoje

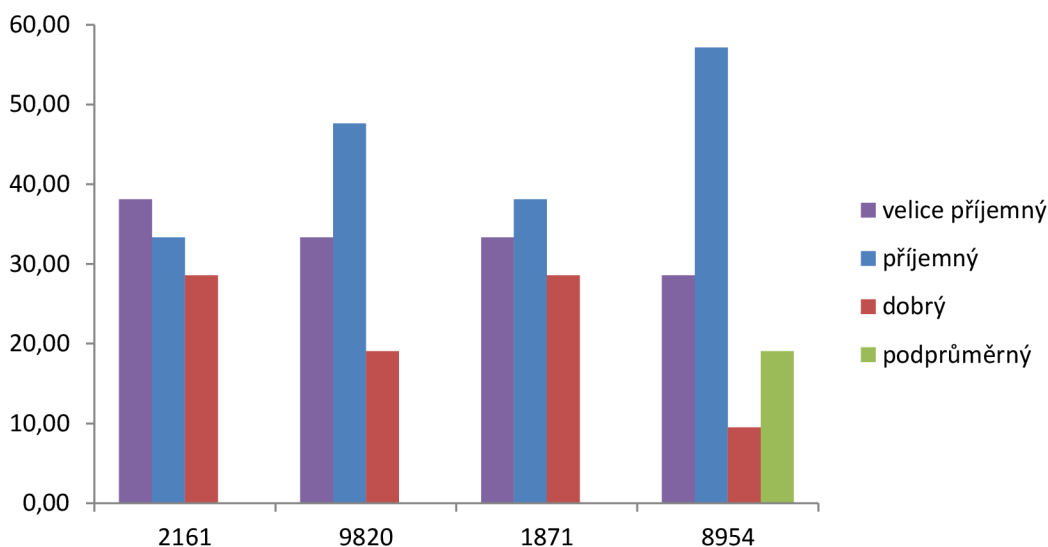
Vzhledem k tomu, že aronie samotná dodává nápoji trpčí chuť, navrhla firma obohatit připravovaný nápoj další, dominující ovocnou složku. Při tomto senzoričtém hodnocení byly hodnotitelům předloženy vzorky, jejichž složení jsou uvedeny v Tabulka 8.

Tohoto hodnocení se zúčastnily pouze ženy. Téměř všechny hodnotitelky měly kladný vztah k alkoholu a jako alkoholický nápoj preferovaly víno, cidery a míchané nápoje. Opět měly za úkol zhodnotit předložené nápoje co se týče intenzity barvy, čirosti, vůně a chutě nápoje. Jednotlivé hodnocení jsou uvedeny v Graf 28 až Graf 36.



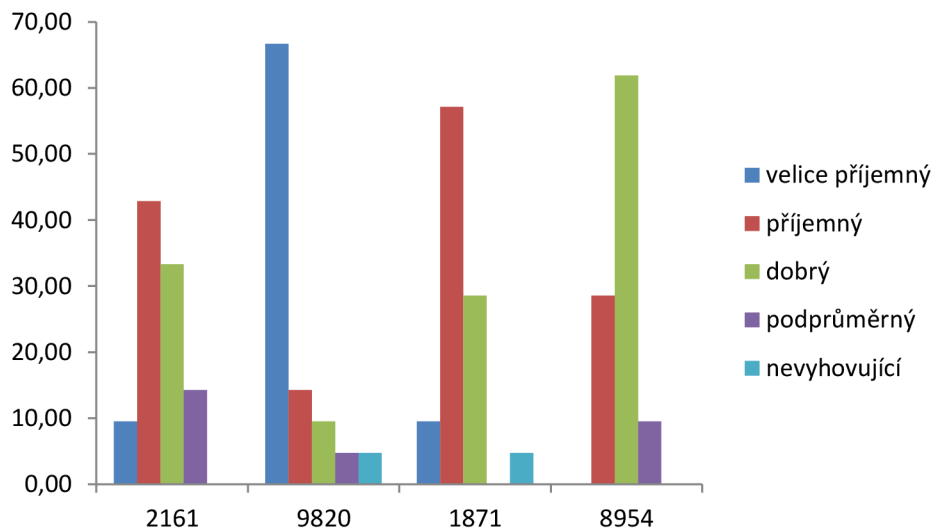
Graf 28 Hodnocení intenzity barvy jednotlivých nápojů

Velice příjemnou intenzitu barvy měl nápoj 9820. Druhý kladně hodnocený byl nápoj 2161. Příjemnou barvu měl nápoj 1871. Hodnocení jako dobrá barva obdržel nápoj 8954.



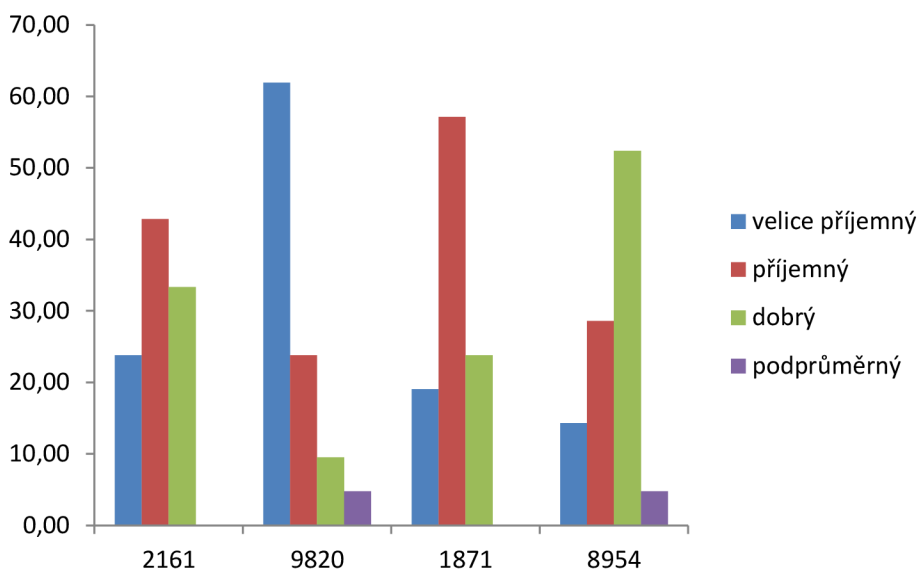
Graf 29 Hodnocení čirosti nápoje

U všech předložených nápojů byla nejvíce hlasy hodnocena čirost nápoje jako „příjemná“. Jako nejvíce příjemná byla hodnocena u nápoje 8954. Na druhém místě pak byl nápoj 9820. Žádný z předložených nápojů nebyl hodnocen jako nevyhovující.



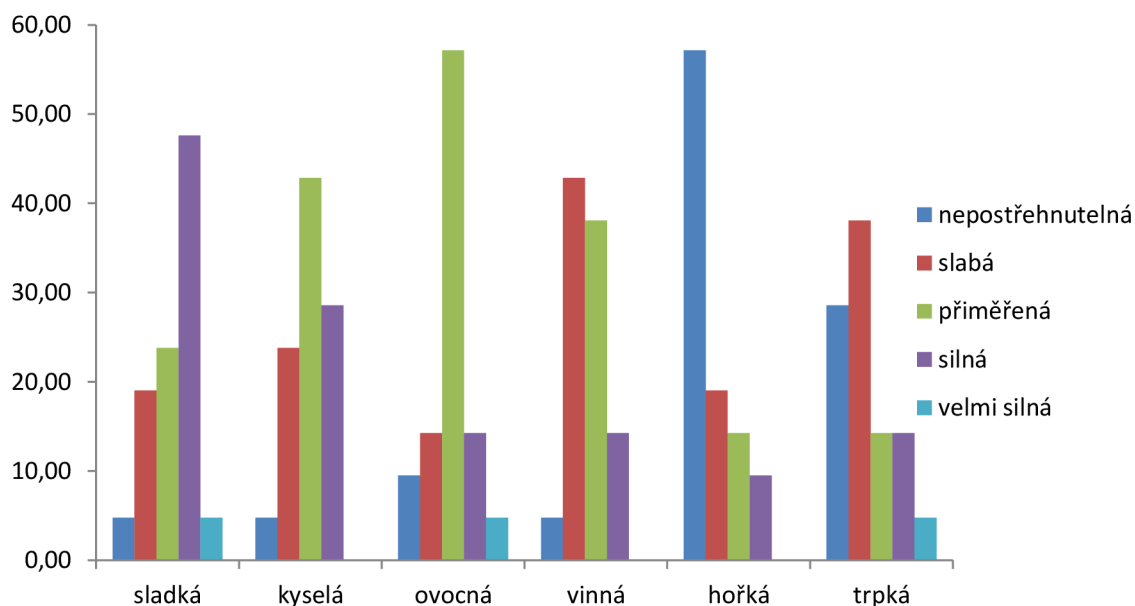
*Graf 30 Hodnocení vůně nápojů*

Velice příjemnou vůni měl podle hodnotitelů nápoj 9820. Příjemnou vůni měl nápoj 1871 a 2161. Dobrou vůni pak měl nápoj 8954.



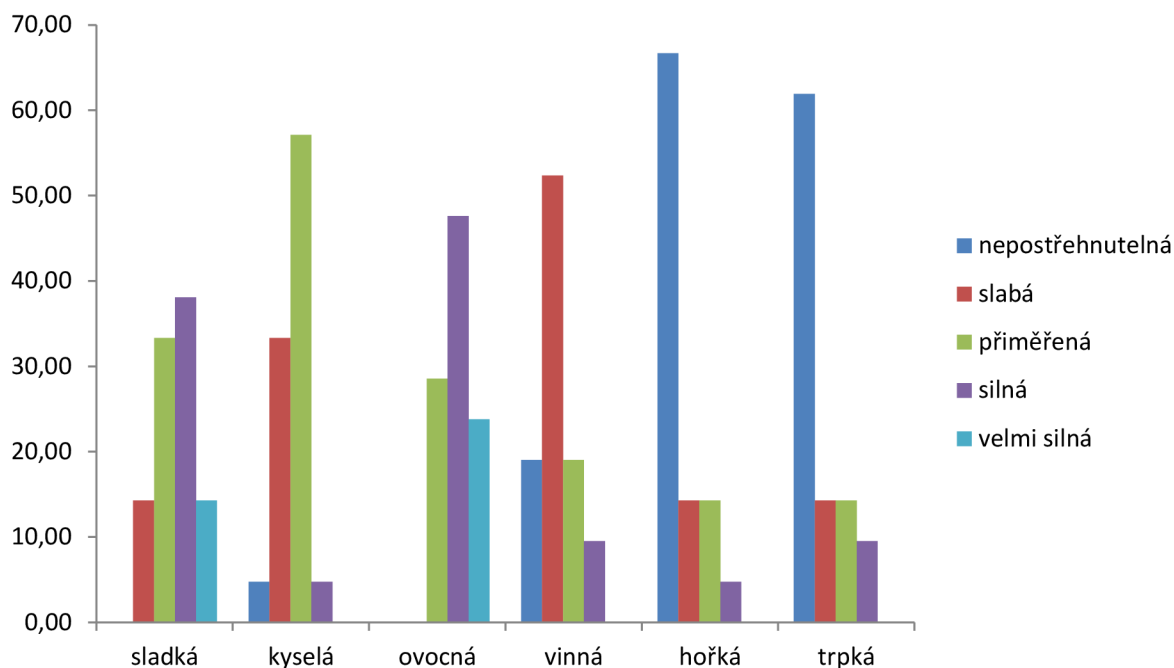
*Graf 31 Hodnocení celkového vzhledu nápojů*

Velice příjemný vzhled nápoje měl nápoj 9820. Příjemně působil nápoj 1871 a 2161. Nápoj 8954 získal celkový vzhled dobrý.



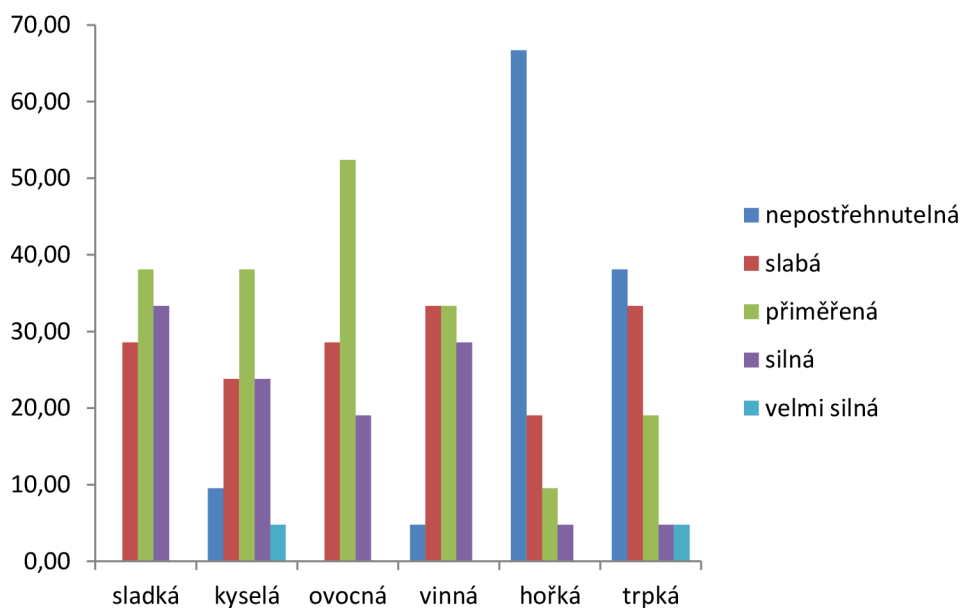
Graf 32 Hodnocení chut' nápoje 2161

U nápoje 2161 byla sladká chuť hodnocena jako silná. Nápoj měl chuť kyselou a ovocnou přiměřenou. Chuť vinná a trpká byly slabé a chuť hořká zde byla nepostřehnutelná.



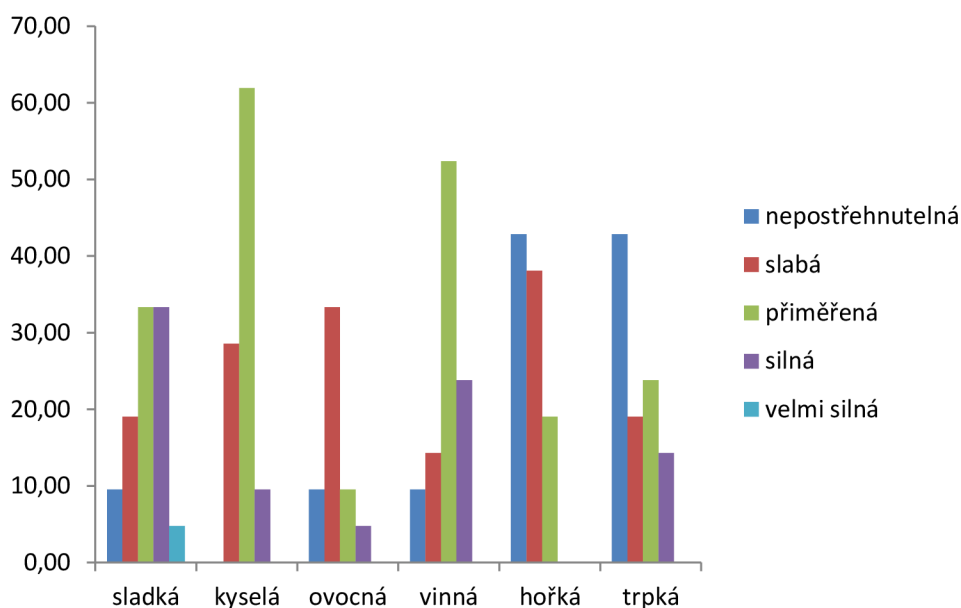
Graf 33 Hodnocení chuti nápoje 9820

U nápoje 9820 byly chuť hořká a trpká nepostřehnutelné. Vinná chuť zde byla cítit slabě. Chuť kyselá zde byla přiměřená a chuť sladká a ovocná zde byly silné.



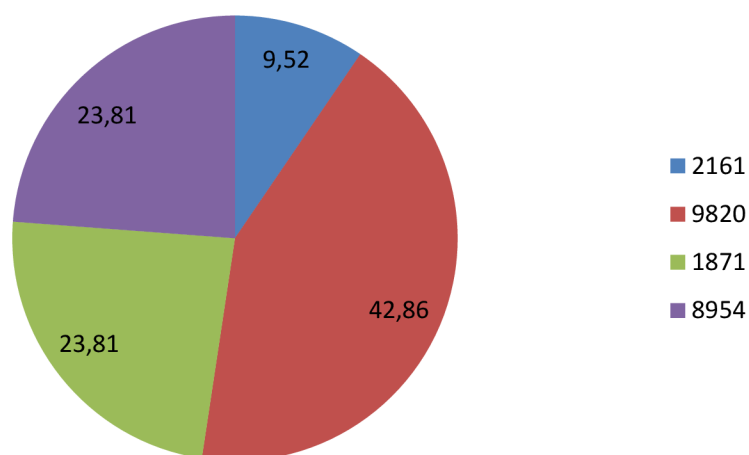
Graf 34 Hodnocení chuti nápoje 1871

U nápoje 1871 byly chutě hořká a trpká hodnoceny jako nepostřehnutelné. chuť sladká, kyselá a ovocná zde byly hodnoceny jako přiměřené. Chuť vinná byla některými hodnotiteli hodnocena jako slabá a některými jako přiměřená.



Graf 35 Hodnocení chuti nápoje 1894

U nápoje 1894 byly chutě trpká a hořká hodnoceny jako nepostřehnutelné. Chuť ovocná zde byla hodnocena jako slabá. Chutě kyselá a vinná zde byly hodnoceny jako přiměřené. Chuť sladká byla pro některé hodnotitele cítit přiměřeně a pro některé silně



*Graf 36 Hodnocení další ovocné složky kombinovaného nápoje*

Na Graf 36 je uvedeno, jak byly předložené nápoje preferovány u hodnotitelů. Nejvíce oblíbeným nápoje se stal nápoj 9820. Tento nápoj obsahoval kromě aróniové složky i lesní jahodu.

## 4 Závěr

Teoretická část byla zaměřena na sepsání rešerše zahrnující výrobu vína a ovocných šťáv. U vína byly definovány základní složky vína a to alkoholy, sacharidy, kyseliny a fenolické sloučeniny. U ovocných šťáv byly popsány technologické operace výroby čirých šťáv a šťavních koncentrátů. Dále se teoretická část zabývala definováním přídatnými látkami a to kyselinou citrónovou a vitamínem C. Tyto dvě látky se řadí mezi přídatné látky s antioxidačními účinky a proto jsou člověku pozitivně přínosné. Další kapitolu tvořila sensorická analýza vína a ovocných šťáv. Zde byla popsána základní pravidla pro účastníky sensorického hodnocení.

Výše uvedené informace byly nutné pro přípravu kombinovaného nápoje a analýzy chemických vlastností nápoje.

Experimentální část byla rozdělena na část sensorickou a část chemickou. Sensorická část byla zaměřena na hodnocení připravených nápojů. Celkově byly připraveny 4 sady nápojů. První sada se týkala hodnocení kvality použitého vína. Byly připraveny 4 nápoje o stejném složení, ale byly použity různé druhy vín. Vítězným nápojem byl nápoj 4898, na jehož přípravu bylo použito víno směs.

Druhá sada sensorického hodnocení byla zaměřena na použití přídatných látek do nápojů. Jako přídatné látky byly použity kyselina citrónová a vitamin C. Celkem byly hodnotitelům předloženy 4 vzorky lišící se použitou přídatnou látkou. Nejlépe hodnoceným nápojem byl nápoj 2315, který obsahoval přídavek vitamínu C o koncentraci  $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Na přání objednatele výzkumu byla upravena barva nápoje snížením obsahu ovocné složky. Bylo tedy nutno opravit obsah ostatních složek kombinovaného nápoje, tj. vody, vína a RMK. Jako aditivum byla použita kyselina citrónová a vitamínu C v množství 1 a 2  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . to bylo provedeno ve třetí sadě sensorického hodnocení. Hodnotitelům byly předloženy 3 vzorky. Nejlépe hodnocený nápoj byl nápoj 8954, který obsahoval 57 % vody, 30 % vína, 12 % RMK, 1 % aroniového koncentrátu. Dále obsahoval  $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  vitamínu C a stejné množství kyseliny citrónové.

Poslední sensorické hodnocení bylo zaměřeno na přidání další ovocné složky. Předešlé nápoje byly připravovány z čistého aroniového koncentrátu. V tomto hodnocení byly připraveny vzorky, kde kromě aronie byla dodána ještě další ovocná složka a to brusinka (nápoj 2161), lesní jahoda (nápoj 9820) a borůvka (nápoj 1871). Hodnotitelům nejvíce chutnal nápoj 9820, kde byla obsažena vedle aronie ještě lesní jahoda. Finální složení tohoto nápoje bylo: 57 % vody, 30 % vína, 12 % RMK, 1 % aroniového koncentrátu s přídavkem lesní jahody. Byl také obohacen o kyselinu citrónovou a Vitamin C v množství po  $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Je nutné podotknout, že sensorické hodnocení je velice individuální. Každý hodnotitel je naprosto ojedinělý a má složení chuťových pohárků jiné než ostatní. Proto by výsledky sensorického hodnocení mohly dopadnout jinak při jiné skupině hodnotitelů.



Dalším bodem experimentální části bylo stanovit některé chemické vlastnosti aróniového koncentrátu, vína a námi připravených kombinovaných nápojů. Pro posouzení, zda jsou dle složení lepší naše nápoje, než nápoje již uvedené na trh, byly všechny testy provedeny u komerčních nápojů a to Strongbow černý rybíz a Frisco brusinka. U těchto vzorků byla stanovena titrační kyselost, celkové fenolické kyseliny, antokyanová barviva a cukry. U aróniového koncentrátu byly cukry stanoveny metodou podle Bertranda. Obsah redukujících cukrů v koncentrátu činil 38,3 %. U ostatních vzorků byly cukry stanoveny pomocí HPLC. Zde byly analyzovány cukry glukóza a fruktóza. Víno obsahovalo  $0,34 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  celkových cukrů, přičemž obsahovalo více fruktózy než glukózy. Cukry u kombinovaných nápojů se pohybovaly v rozmezí  $7,73\text{--}14,43 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Nápoje byly doslazovány RMK, což je zahuštěná hroznová šťáva. Právě obsah RMK ovlivnil množství cukrů v nápojích. Stejně jako u vína obsahovaly vzorky více fruktózy než glukózy. Obsah cukrů u komerčních nápojů se pohyboval kolem  $7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ , což je méně než u vítězných kombinovaných nápojů. Nápoj 8954, jehož složení bylo určeno pro další přípravu nápojů, obsahoval  $9,38 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ , nápoj 2315, do kterého byl přidán pouze vitamin C, obsahoval  $9,67 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  a nápoj 9820, který kromě aróniové složky obsahoval lesní jahodu, obsahoval  $9,05 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  cukrů.

Nejvyšší titrační kyselost byla stanovena u aróniového koncentrátu –  $43,38 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Titrační kyselost v jednotlivých vzorcích se pohybovala v rozmezí  $1,96\text{--}5,27 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Titrační kyselost nejvhodnějšího vína byla  $4,63 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  kyseliny vinné. Je to víno s nižším obsahem kyselin, než je běžné. Aby nebyla narušena výsledná chuť kombinovaného nápoje, musí se pro jeho výrobu vybírat víno s nízkou kyselinou.

U analýzy fenolických kyselin nejvíce kyselin obsahoval aróniový koncentrát o koncentraci  $37,56 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Víno obsahovalo  $1,08 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Námi připravené nápoje obsahovaly fenolické látky v rozmezí  $0,54\text{--}2,31 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Nejvyšší koncentraci má nápoj 4898, který neobsahuje žádnou přídatnou látku, ale obsahuje aróniový koncentrát o obsahu 8 %. Komerční nápoje obsahují 2krát až 8krát menší podíl fenolických kyselin.

Aróniový koncentrát obsahoval  $42,86 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  anthokyanových barviv. Víno obsahovalo  $0,06 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Tato nízká hodnota je způsobena tím, že bílé víno neobsahuje téměř žádná anthokyanová barviva. Námi připravené vzorky obsahovaly anthokyanová barviva v rozmezí  $0,08$  až  $12,14 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Strongbow černý rybíz obsahoval  $2,06 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  antokyanových barviv, načež Frisco brusinka pouze  $0,45 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Námi připravený nápoj obsahuje více fenolických látek, než komerční nápoje. Díky tomu obsahuje více antioxidantů a je více zdraví prospěšný než nápoje již uvedené na trh. Jeho negativní stránkou je vysoký obsah cukrů. Pro další zlepšování kvalit tohoto nápoje by bylo dobré snížit obsah RMK, což požadovali i někteří hodnotitelé. Dosavadní obsah RMK je 12 %. Vzhledem k tomu, že nápoj s obsahem RMK 9 % (nápoj 2116) nebyl pro hodnotitele dosti atraktivní, nabízí se alternativní řešení snížit obsah RMK na 10 %.

## 5 Seznam použitých zdrojů

- [1] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80–247–1247–4.
- [2] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 2., aktualiz. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978–80–903201–9–2.)
- [3] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978–80–905319–2–5.
- [4] KRAUS, Vilém, Vítězslav HUBÁČEK a Petr ACKERMANN. *Rukověť vinaře*. 3. vyd. Praha: Brázda, 2010. ISBN 978-80-209-0378-5.
- [5] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko–technologická, 2002. ISBN 80–708–0509–9.
- [6] KRAUS, Vilém, Vítězslav HUBÁČEK a Petr ACKERMANN. *Pěstujeme révu vinnou*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2012. Česká zahrada. ISBN 978-80-247-3465-1.
- [7] <http://www.vinex.cz/klasifikacevin.htm>
- [8] <https://www.zakonyprolidi.cz/>
- [9] TAILLANDIER, Patricia, .. JACQUES BONNET a . Le vin: composition et transformations chimiques. Paris: Éd. Tec, 2005. ISBN 27–430–0804–0.
- [10] MANACH, Claudine. Polyphenols: food sources and bioavailability1,2. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2004, **79**(5).
- [11] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2., opr. vyd. Praha: Academia, c1996, 180, 135, 191 s. ISBN 9788020006004.
- [12] UHROVÁ, Helena. Domácí výroba slivovice a ostatních destilátů, ovocných šťáv, sirupů a vín. 1. Líbeznice: Víkend, 2009. ISBN 978–80–7433–014–8.
- [13] <http://www.mzv.cz>
- [14] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko–technologická, 2002. ISBN 80–708–0510–2.
- [15] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80–866–5903–8)
- [16] BABIČKA, Luboš. *Přidatné látky v potravinách: publikace České technologické platformy pro potraviny*. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2012. ISBN 978–80–905096–3–4.
- [17] Éčka v potravinách. *Zdravá potravina* [online]. Praha: zdravá potravina [cit. 2017–04–20]. Dostupné z: <http://www.zdravapotravina.cz/seznam-ecek>
- [18] AGUILAR, Karla, Alfonso GARVÍN, Albert IBARZ a Pedro E.D. AUGUSTO. Ascorbic acid stability in fruit juices during thermosonication. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2004, **79**(5). DOI: 10.1016/j.ultsonch.2017.01.029. ISBN 10.1016/j.ultsonch.2017.01.029. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135041771730038X>
- [19] VANDENBERGHE, L.P.S., C. RODRIGUES, J.C. DE CARVALHO, A.B.P. MEDEIROS a C.R. SOCCOL. Production and Application of Citric Acid. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2004, **79**(5). DOI: 10.1016/B978-0-444-63662-1.00025-

7. ISBN 10.1016/B978-0-444-63662-1.00025-7. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444636621000257>
- [20] POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSÁ a Helena VALENTOVÁ. *Sensorická analýza potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko–technologická, 1998. ISBN 80–708–0329–0.
- [21] NOVOTNÝ, Ivan a Michal HRUŠKA. *Biologie člověka*. 5., rozšířené a upravené vydání. Praha: Fortuna, 2015. ISBN 978–80–7373–128–1.
- [22] <https://eluc.kr-olomoucky.cz>
- [23] STANĚK, Jan. Ochucená piva ženou trh vpřed. *IPSOS*. 2013, , 2.
- [24] <http://www.zlatopramen.cz>
- [25] <http://www.dobrycider.cz>
- [26] <https://www.friscodrink.cz>
- [27] <http://www.winka.cz>
- [28] NĚMCOVÁ, Irena, Ludmila ČERMÁKOVÁ a Petr RYCHLOVSKÝ. *Spektrometrické analytické metody I*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80–246–0776–X.]
- [29] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Vyd. 1. Brno: VUTIUM, 2000, 347 s. ISBN 80–214–1742–0.
- [30] <http://laure.plasma.de/analysis/uv-vis-ir-spektrometry>
- [31] NOVÁKOVÁ, Lucie. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. 1. vyd. Praha: Lucie Nováková, 2013, 299 s. . ISBN 978–80–260–4243–3.
- [32] ŠVEC, František. Co dnes hýbe kapalinovou chromatografií? *Chemické listy*. 2009, (103), 266–270.
- [33] HRSTKA, Miroslav. *Praktikum z analytické chemie potravin*. 2. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013.
- [34] BALÍK, Josef. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. Vyd. 3., nezměn. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004. ISBN 80–715–7933–5.
- [35] ZLOCH, Zdeněk. Důkaz a stanovení antokyanových v barevných nápojích. *Kvasný průmysl*. 1985, **31**(3), 58 – 60.
- [36] KULLING, S. E., RAWEL, H. M. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*)- A Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects. *Planta Medica*, 2008, vol. 74, pp. 1625-1634.

## **6 Seznam použitých zkratk a symbolů**

ASVK – aktivované sušené vinné kvasinky

NM – stupeň normovaného moštoměru

ES – Evropské společenství

CO<sub>2</sub> – oxid uhličitý

NPM – nejvyšší povolené množství

UV – VIS spektrometrie – spektrometrie probíhající v ultrafialové a viditelné oblasti

RMK – rektifikovaný moštový koncentrát

HPLC – vysokoučinná kapalinová chromatografie

ELSD – evaporative light scattering HPLC detector

## **7 Seznam příloh**

- I. Dotazník pro hodnocení kombinovaných nápojů
- II. Příklad surových dat a jejich zpracování
- III. Ukázka chromatogramů při stanovení cukrů
- IV. Kalibrační křivka fruktózy
- V. Kombinované nápoje

## 8 Přílohy

### 8.1 Ukázka Dotazníku pro senzoričnou analýzu kombinovaných nápojů

#### Dotazník–senzoričké hodnocení kombinovaných nápojů

##### Kombinované nápoje

##### Osobní charakteristiky:

Jméno:.....

Datum:.....

Příjmení:.....

Čas:.....

Pohlaví: .....

Věk:.....

##### 1. Jaký vztah máte k alkoholu:?

- alkohol mám velmi rád/a, často ho konzumuji
- alkohol mám rád/a, občas ho konzumuji
- alkohol vůbec nepiji

##### 2. Pokud pijete alkohol, jaké alkoholické nápoje preferujete? ( Je možné více odpovědí)

- pivo
- víno
- vodka, slivovice, rum....
- cidery, míchané koktejly....

**Ochutnejte prosím předložené vzorky kombinovaných nápojů. Sledujte vzhled, vůni a chuť obou vzorků. Podle uvedené stupnice ohodnot'te jejich jednotlivé vlastnosti a uveďte je do tabulky níže:**

Stupnice:

- velice příjemný
- příjemný
- dobry
- podprůměrný
- nevyhovující

### 1. Hodnocení vzhledu a vůně:

<b>Vlastnost:</b>	<b>Nápoj 2318</b>	<b>Nápoj 2319</b>	<b>Nápoj 2114</b>
Intenzita barvy			
Čírost			
Vůně			
Celkový vzhled			

### 2. Hodnocení chuti:

Stupnice:

1. nepostřehnutelná
2. slabá
3. přiměřená
4. silná
5. velmi silná

<b>Chuť</b>	<b>Nápoj 2318</b>	<b>Nápoj 2319</b>	<b>Nápoj 2114</b>
Sladká			
Kyselá			
Ovocná			
Vinná			
Hořká			
Trpká			

### 3. Rozhodněte, kterému z předložených nápojů byste dali přednost a proč?

Kombinovaný nápoj č:

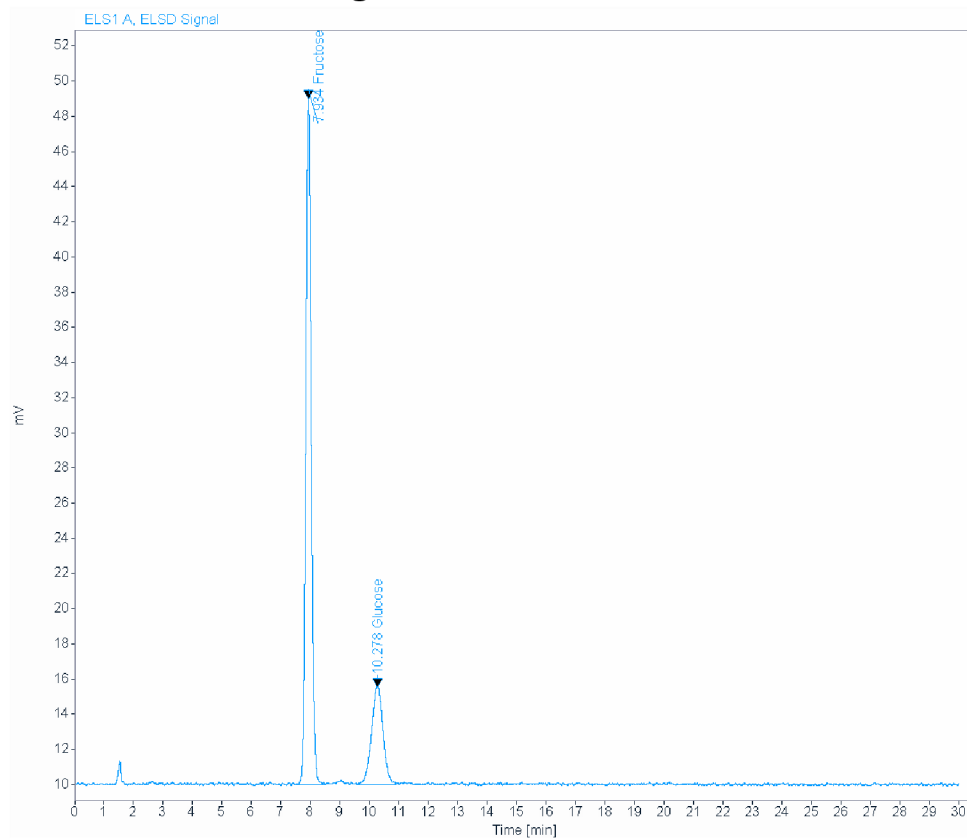
## 8.2 Příklad surových dat a jejich zpracování

Tabulka 14 Ukázka zpracování surových dat

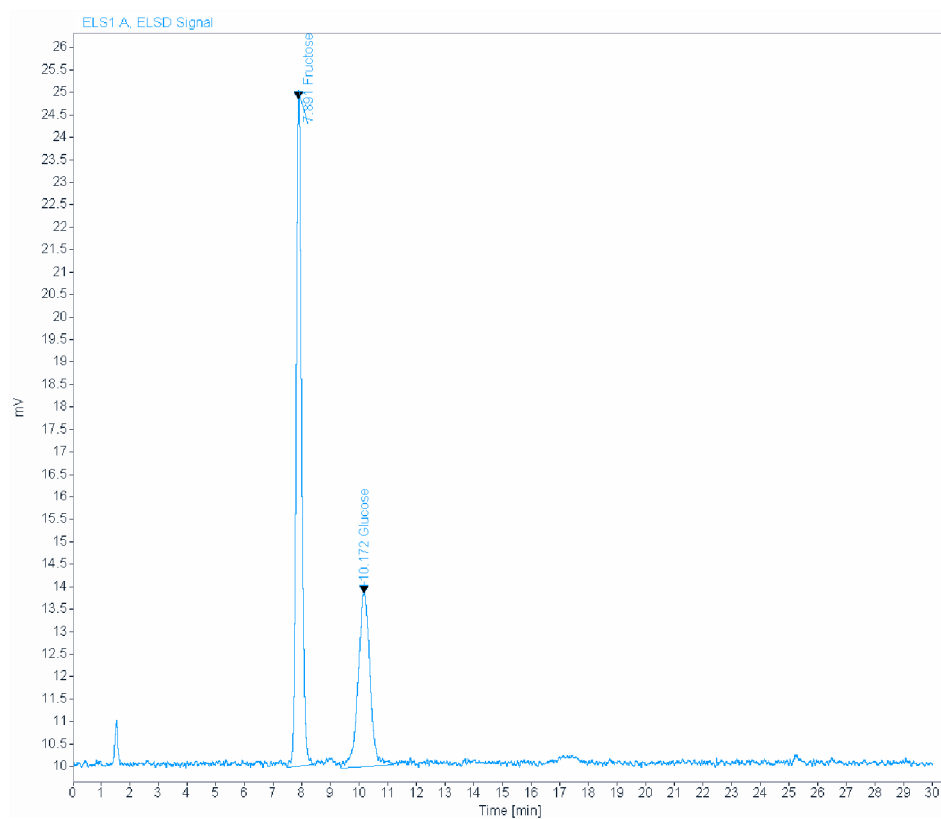
	$A_1$	$A_2$	$A_3$	$A$	ředění	$c [g \cdot l^{-1}]$
<b>Aróniový koncentrát</b>	0,200	0,126	0,166	0,164	1000	37,56±0,03
<b>Víno</b>	0,372	0,437	0,544	0,451	10	1,08±0,07
<b>Nápoj 4898</b>	0,439	0,463	0,533	0,478	10	2,31±0,04
<b>Nápoj 1848</b>	0,149	0,111	0,102	0,121	10	0,54±0,02
<b>Nápoj 2315</b>	0,243	0,242	0,258	0,248	10	1,16±0,01
<b>Nápoj 2255</b>	0,146	0,048	0,121	0,105	10	0,46±0,04
<b>Nápoj 8954</b>	0,436	0,471	0,493	0,467	10	1,12±0,02
<b>Nápoj 2116</b>	0,485	0,460	0,527	0,491	10	1,18±0,03
<b>Nápoj 9798</b>	0,572	0,630	0,588	0,597	10	1,44±0,02
<b>Nápoj 2161</b>	0,175	0,181	0,167	0,174	10	0,80±0,01
<b>Nápoj 9820</b>	0,108	0,112	0,160	0,127	10	0,57±0,02
<b>Nápoj 1871</b>	0,118	0,143	0,147	0,136	10	0,61±0,01
<b>Strongbow černý rybíz</b>	0,114	0,099	0,126	0,113	10	0,25±0,011
<b>Frisco brusinka</b>	0,135	0,118	0,105	0,119	10	0,27±0,01



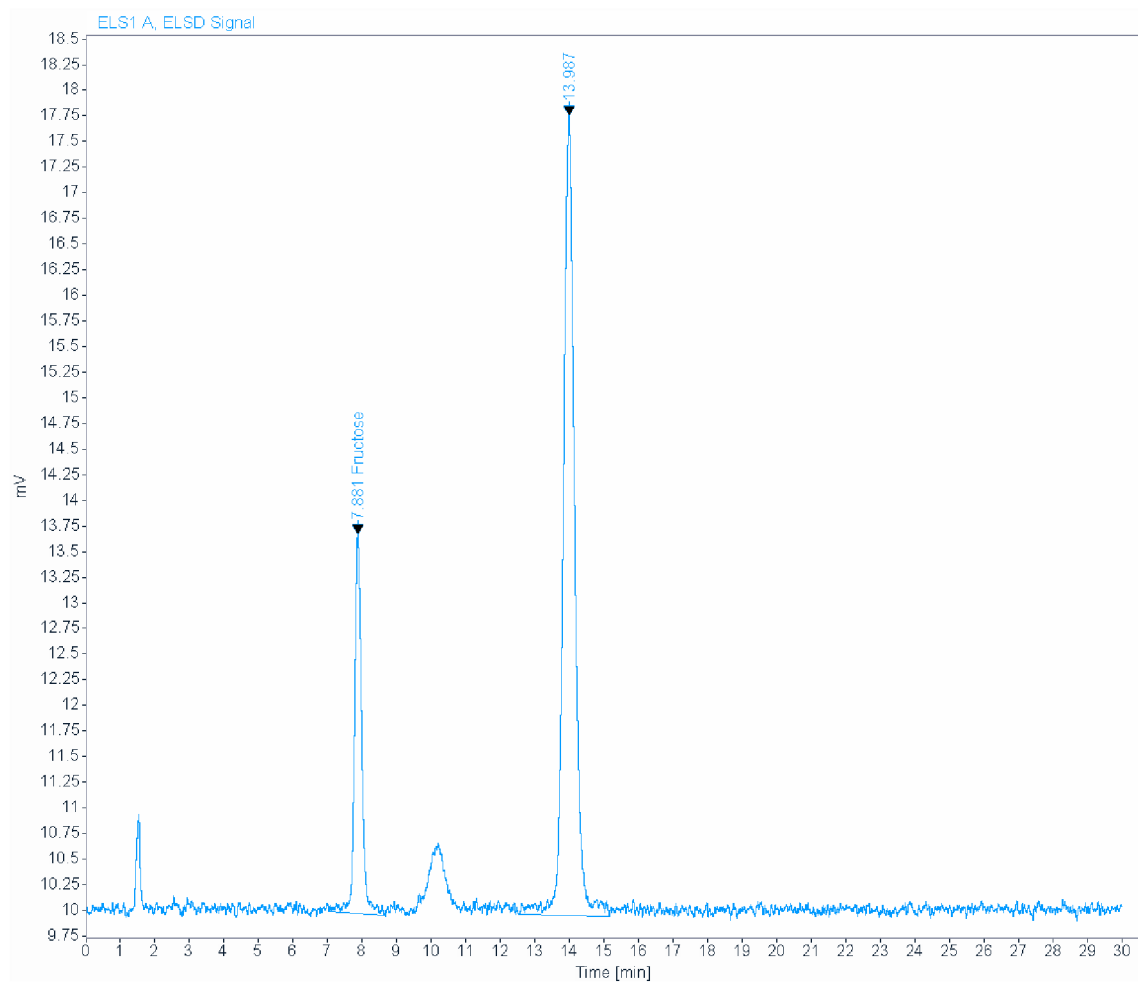
### 8.3 Ukázka chromatogramů



Obrázek 7 Chromatogram nápoje 1871

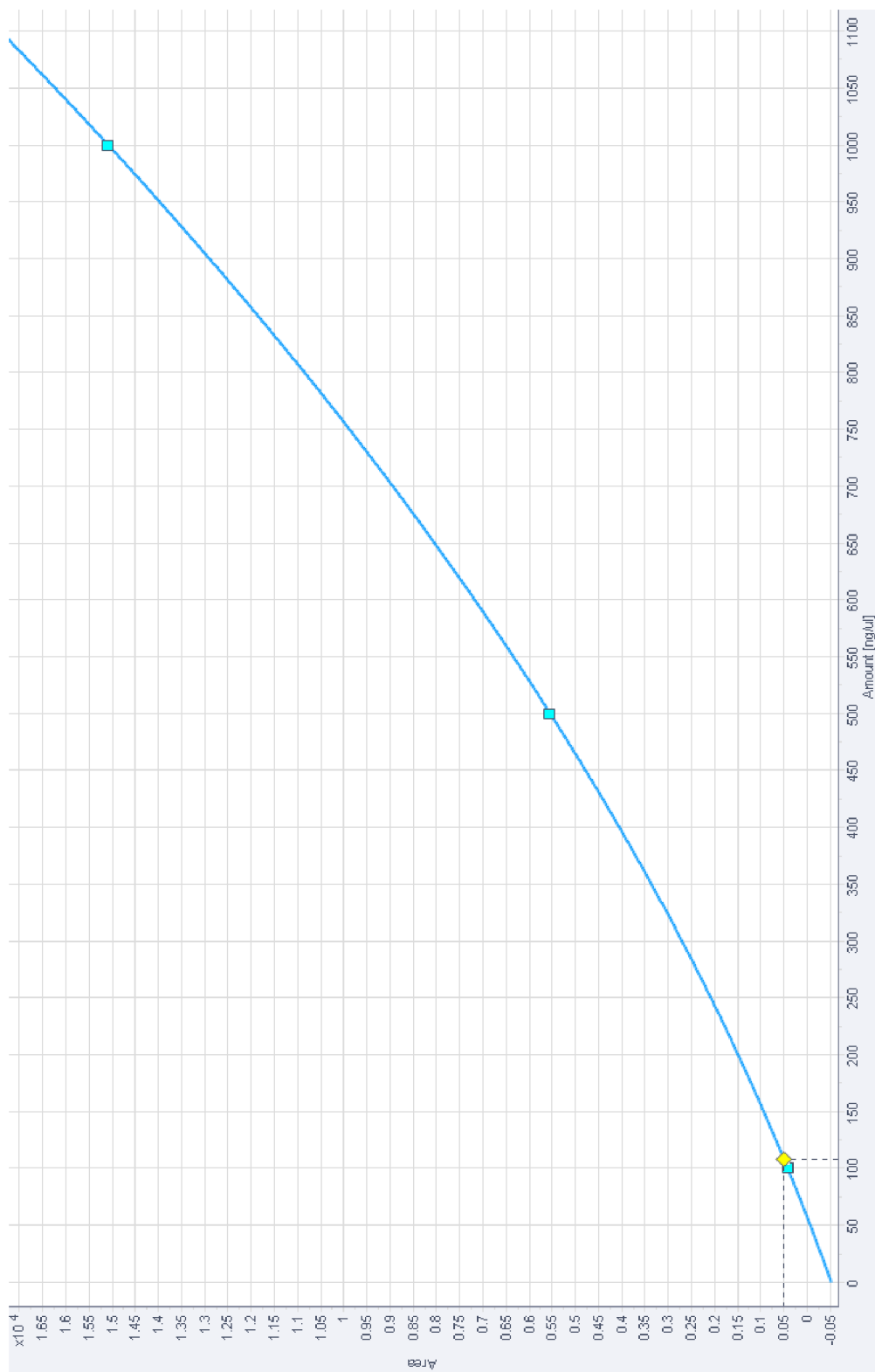


Obrázek 8 Chromatogram komerčního nápoje Strongbow černý rybíz



Obrázek 9 Chromatogram komerčního nápoje Frisco brusinka

## 8.4 Kalibrační křivka fruktózy



## 8.5 Kombinované nápoje



*Obrázek 10 Kombinované nápoje – vlevo nápoj s obsahem arónie 8 % (nápoj 4898), vpravo nápoj s obsahem arónie 1 % (nápoj 8954)*



*Obrázek 11 Vzorky předkládané k senzoričkému hodnocení*



*Obrázek 12 Kombinované nápoje: Zleva nápoj s arónií (8954); nápoj arónie + brusinka (2161); nápoj arónie + jahoda (9820); arónie + borůvka (1871)*