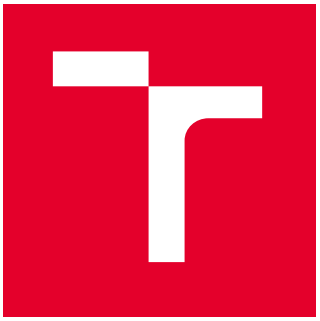


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

ŽELÉ CUKROVINKY S PŘÍDAVKEM EXTRAKTU BRUSNICE BORŮVKY (VACCINIUM MYRTILLUS)

JELLY CANDIES WITH THE ADDITION OF BILBERRY (VACCINIUM MYRTILLUS) EXTRACT

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE — **Bc. Pavlína Knapovská**
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**
SUPERVISOR

BRNO 2024

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ

Zadání diplomové práce

Číslo práce:	FCH-DIP1939/2023	Akademický rok: 2023/24
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Studentka:	**Bc. Pavlína Knapovská**	
Studijní program:	Chemie přírodních látek	
Studijní obor:	bez specializace	
Vedoucí práce:	**doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**	

Název diplomové práce:

Želé cukrovinky s přídavkem extraktu brusnice borůvky (Vaccinium myrtillus)

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
– želé cukrovinky – charakteristika, složení, senzorické vlastnosti, těkavé (aromatické) látky – vznik v průběhu výroby
– brusnice borůvka – charakteristika, složení, obsažené aromatické látky a látky s antioxidačním potenciálem, možnosti jejich stanovení
2. Optimalizujte proces přípravy extraktu borůvek a charakterizujte jeho složení
3. Posuďte vliv přídavku extraktu na antioxidační potenciál, obsah biologicky aktivních a těkavých látek a celkovou senzorickou kvalitu vzorků cukrovinek

Termín odevzdání diplomové práce: 29.4.2024:

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

Bc. Pavlína Knapovská studentka	doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D. vedoucí práce	prof. RNDr. Ivana Márová, CSc. vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá aplikací plodů brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus*) a jejich extraktu do želé cukrovinek a následnou charakterizací těchto cukrovinek z hlediska obsahu těkavých látek, celkového obsahu fenolických látek a anthokyanů, antioxidační aktivity a senzorické kvality.

Těkavé látky byly stanoveny pomocí headspace mikroextrakce na pevnou fázi ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní detekcí a pro stanovení bioaktivních látek byly použity standardní spektrofotometrické metody. Celkový obsah fenolických látek byl stanoven Folin-Ciocalteuovou metodou, antioxidační aktivita metodou TEAC a celkový obsah anthokyanů pH diferenciální analýzou. Senzorická kvalita vzorků byla hodnocena pomocí nestrukturovaných grafických stupnic.

V rámci optimalizace byla optimalizována příprava extraktu borůvek na základě celkového obsahu fenolických látek a jako optimální podmínky byly zvoleny: navážka 1000 gramů borůvek na litr vody, teplota 50 °C a doba extrakce 2 hodiny. Jako optimální přídavky do cukrovinek byly, na základě senzorické analýzy, zvoleny: 25 % hm. extraktu a 15 % hm. borůvek.

Ve vzorku cukrovinky s extraktem borůvek bylo identifikováno celkem 45 těkavých látek, nejvíce zastoupeny byly (E) hexadec-9-enol (22,7 %), furfural (10,9 %) a 2-ethylhexanol (10,0 %). Celkový obsah fenolických látek byl $1141 \pm 11\ \mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$, antioxidační aktivita $660 \pm 66\ \mu g_{TE} \cdot g^{-1}$ a celkový obsah anthokyanů $418 \pm 23\ \mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$.

Ve vzorku cukrovinky s borůvkami bylo identifikováno celkem 40 těkavých látek a nejvíce zastoupeny byly linalool (22,7 %), (E) hexadec-9-enol (16,1 %) a 2-ethylhexanol (8,4 %). Celkový obsah fenolických látek byl $1735 \pm 56\ \mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$, antioxidační aktivita $1109 \pm 32\ \mu g_{TE} \cdot g^{-1}$ a celkový obsah anthokyanů $745 \pm 23\ \mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$.

S přídavkem extraktu i borůvek došlo u cukrovinek k výraznému zvýšení obsahu bioaktivních i těkavých látek, pozitivně byla hodnocena jejich barva i chuť a zlepšila se tak i jejich celková přijatelnost.

KLÍČOVÁ SLOVA

cukrovinky, borůvka, aromatické látky, antioxidanty, senzorická analýza, SPME, GC-MS

ABSTRACT

This thesis deals with the application of bilberry fruits (*Vaccinium myrtillus*) and their extract to jelly candies and the subsequent characterization of these candies in terms of volatile compounds, total phenolic compounds and anthocyanins, antioxidant activity and sensory quality.

The volatiles were determined by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometry and standard spectrophotometric methods were used for the determination of bioactive compounds. Total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity by the TEAC method and total anthocyanin content by pH differential analysis. The sensory quality of the samples was evaluated using unstructured graphical scales.

The preparation of the bilberry extract was optimized on the basis of total phenolic content and the following conditions were selected as the optimal: a weight of 1000 grams of bilberries per litre of water, a temperature of 50 °C, and an extraction time of 2 hours. The optimum additions to candies were selected, by sensory analysis, as 25 wt. % of extract and 15 wt. % of bilberries.

A total of 45 volatile compounds were identified in the candy with bilberry extract, the most abundant being (E)-9-hexadecen-1-ol (22,7 %), furfural (10,9 %) and 2-ethylhexan-1-ol (10,0 %). The total phenolic content was 1141 ± 11 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$, the antioxidant activity was 660 ± 66 $\mu g_{TE} \cdot g^{-1}$ and the total anthocyanin content was 418 ± 23 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$.

A total of 40 volatile compounds were identified in the candy with bilberry and the most abundant were linalool (22,7 %), (E)-9-hexadecene-1-ol (16,1 %) and 2-ethylhexan-1-ol (8,4 %). The total phenolic content was 1735 ± 56 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$, the antioxidant activity was 1109 ± 32 $\mu g_{TE} \cdot g^{-1}$ and the total anthocyanin content was 745 ± 23 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$.

With the addition of both the extract and the bilberries, the candies showed a significant increase in bioactive and volatile compounds content, and the colour and flavour of the enriched samples were positively evaluated, thus improving their overall acceptability.

KEY WORDS

candies, bilberry, aroma compounds, antioxidants, sensory analysis, SPME, GC-MS

KNAPOVSKÁ, Pavlína. *Želé cukrovinky s přídavkem extraktu brusnice borůvky (Vaccinium myrtillus)* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-04-15]. Dostupné z: https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156544. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studenta

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala paní doc. Ing. Evě Vítové Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při vypracovávání této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Matěji Rychetskému za rady a pomoc při práci v laboratoři.

OBSAH

1 ÚVOD 9
2 TEORETICKÁ ČÁST 10
2.1 Nečokoládové cukrovinky 10
2.1.1 Suroviny pro výrobu želé cukrovinek 12
2.1.1.1 Přírodní a náhradní sladidla 12
2.1.1.2 Želírující látky 15
2.1.1.3 Leštící látky 16
2.1.1.4 Barviva 17
2.1.1.5 Aromata 18
2.1.1.6 Látky upravující kyselost 18
2.1.2 Technologie výroby želé cukrovinek 18
2.1.2.1 Želatinové želé 19
2.1.2.2 Pektinové želé 19
2.1.2.3 Škrobové želé 19
2.1.2.4 Agarové želé 19
2.1.3 Současné trendy při výrobě želé cukrovinek 20
2.2 Aromatické látky 21
2.2.1 Primární aromatické látky 21
2.2.2 Sekundární aromatické látky 21
2.2.3 Aromatické látky v cukrovinkách 21
2.3 Charakteristika vybraného rostlinného materiálu – brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*) 22
2.3.1 Nutriční složení brusnice borůvky 23
2.3.2 Bioaktivní látky brusnice borůvky 25
2.3.2.1 Fenolické látky 25
2.3.2.2 Anthokyany 26
2.3.3 Aromatické látky brusnice borůvky 27
2.3.4 Srovnání brusnice borůvky s dalšími zástupci rodu brusnice (*Vaccinium*) 28
2.4 Metody stanovení bioaktivních látek 29
2.4.1 Stanovení antioxidační aktivity 29
2.4.1.1 Metoda TEAC (využívající ABTS) 29
2.4.1.2 Metoda využívající DPPH 30

2.4.1.3 Metody založené na přenosu vodíkového atomu 30
2.4.1.4 Metody založené na přenosu nepárového elektronu 30
2.4.2 Stanovení celkového obsahu fenolických látek 30
2.4.3 Stanovení celkového obsahu anthokyanů 31
2.5 Metody stanovení vonných a chuťových látek 31
2.5.1 Mikroextrakce tuhou fází 31
2.5.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí 32
2.6 Senzorická analýza 32
2.6.1 Podmínky senzorické analýzy 33
2.6.2 Metody senzorické analýzy 34
2.6.2.1 Deskriptivní metody 34
2.6.2.2 Metody s použitím stupnic 34
2.6.3 Senzorická analýza nečokoládových cukrovinek 34
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 36
3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie 36
3.1.1 Chemikálie 36
3.1.2 Plyny 36
3.1.3 Přístroje 36
3.1.4 Pracovní pomůcky 36
3.1.5 Suroviny pro výrobu cukrovinek 36
3.2 Analyzované vzorky 36
3.3 Použité metody a experimentální postupy 38
3.3.1 Metoda HS-SPME-GC-MS 38
3.3.1.1 Podmínky SPME extrakce 39
3.3.1.2 Podmínky GC-MS analýzy 39
3.3.2 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu fenolických látek 39
3.3.2.1 Příprava kalibrační křivky kyseliny gallové 40
3.3.3 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity 40
3.3.3.1 Příprava kalibrační křivky Troloxu 41
3.3.4 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu anthokyanů 42
3.3.4.1 Příprava pufrovacích roztoků 42
3.3.4.2 Vlastní stanovení obsahu celkových anthokyanů 42
3.3.5 Senzorická analýza 42

3.4 Statistické vyhodnocení výsledků ... 43
4 VÝSLEDKY A DISKUZE ... 45
4.1 Výrobní postup želé cukrovinek ... 45
4.1.1 Příprava a postup výroby želé cukrovinek ... 45
4.1.2 Příprava a postup výroby extraktu borůvky ... 45
4.1.2.1 Optimalizace výroby extraktu borůvky ... 46
4.2 Senzorické hodnocení vzorků cukrovinek ... 48
4.2.1 Optimalizace aplikace extraktu borůvek do cukrovinek a jeho vliv na senzorickou kvalitu ... 48
4.2.2 Optimalizace aplikace borůvek do cukrovinek a jejich vliv na senzorickou kvalitu ... 54
4.2.3 Senzorické srovnání optimalizovaných cukrovinek s komerčními ... 59
4.3 Identifikace těkavých látek ... 65
4.3.1 Identifikace těkavých látek ve vzorku extraktu a borůvek ... 66
4.3.2 Identifikace těkavých látek ve vzorcích cukrovinek ... 73
4.4 Stanovení bioaktivních látek ... 81
4.4.1 Stanovení celkových fenolických látek ... 81
4.4.2 Stanovení antioxidační aktivity ... 83
4.4.3 Stanovení celkového obsahu anthokyanů ... 84
4.4.4 Srovnání cukrovinek z hlediska obsahu bioaktivních látek ... 86
5 ZÁVĚR ... 87
6 SEZNAM LITERÁRNÍCH ZDROJŮ ... 89
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK ... 98
8 SEZNAM PŘÍLOH ... 100
9 PŘÍLOHY ... 101

1 ÚVOD

V současnosti roste povědomí o důležitosti zdravé stravy a konzumace potravin s vysokou nutriční hodnotou. Jedním z aspektů těchto trendů je hledání nových způsobů, jak integrovat přírodní ingredience do naší stravy, které nejen zlepší chuť, ale také přinesou řadu zdravotních benefitů. Toto platí i pro cukrovinky, které jsou širokou veřejností vnímány jen jako pochutiny obsahující především cukr, stojící za vlnou obezity, cukrovky a dalších civilizačních onemocnění. Ale i cukrovinky mohou být součástí zdravé stravy.

Brusnice borůvka, latinsky *Vaccinium myrtillus*, je vytrvalý keř patřící do čeledi vřesovcovitých (*Ericaceae*) rodu brusnice (*Vaccinium*). Díky vysokému obsahu bioaktivních látek, jako jsou anthokyany, antioxidanty, fenolické látky, vitaminy a další, jsou jim přisuzovány mnohé léčivé účinky. Své uplatnění našly nejen jako součást zdravé stravy, ale i v lidovém léčitelství, zejména při léčbě poruch zraku, hyperglykémie, diabetu, obezity a zánětlivých poruch.

Kromě obsahu bioaktivních látek vynikají borůvky vyváženou sladkokyselou chutí, příjemným aromatem a typickou modrofialovou barvou. Tím dodávají potravinám příjemnou barvu, chuť i aroma a stále si zachovávají svůj přírodní charakter.

Aplikace borůvek a jejich extraktu do želé cukrovinek a jejich charakterizace z hlediska obsahu aromatických (těkavých) látek, celkového obsahu fenolických látek a anthokyanů, antioxidační aktivity a senzorické kvality byla jedním z cílů této diplomové práce. Hlavním záměrem bylo zjistit, zda přídavek borůvek, případně jejich extraktu, zvýší nutriční a senzorickou hodnotu cukrovinek.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Diplomová práce je zaměřena na aplikaci extraktu brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus*) do nečokoládových želé cukrovinek. Teoretická část zahrnuje charakteristiku nečokoládových cukrovinek se zaměřením na želé cukrovinky. Dále je v práci popsána brusnice borůvka, zejména její bioaktivní a aromatické látky. Stručně jsou charakterizovány metody pro stanovení bioaktivních a aromatických látek a metodika senzorické analýzy, které byly použity v experimentální části práce.

2.1 Nečokoládové cukrovinky

Dle definice (Vyhláška č.76/2003 Sb.) se nečokoládovými cukrovinkami rozumí: „*Potraviny jiné než čokolády a čokoládové bonbony, jejichž základní složku tvoří přírodní sladidla nebo sladidla a další složky, jimiž mohou být i kakaové součásti nebo čokoláda, a které nesplňují požadavky na čokoládu nebo čokoládové bonbony podle §19*“. Tato vyhláška rovněž uvádí rozdělení nečokoládových cukrovinek do skupin, případně podskupin, a definice jednotlivých skupin (viz. tabulka 1) [1].

Tabulka 1 Dělení nečokoládových cukrovinek a jejich definice dle vyhlášky č.76/2003 Sb. [1]

Druh	**Skupina**	**Definice skupin cukrovinek**	**Podskupina**
Cukrovinky	Karamely	Cukrovinky tvárlivé konzistence, do určité míry žvýkavé, s různou příchutí	Tukové s jádrovinami, s ovocnou příchutí, mléčné, kakaové nebo kávové, podle druhu vložky (cukrová, želé, jádroviny, sušené ovoce nebo proslazené, marcipán a další)
	Dražé	Cukrovinky tužší až tvrdé konzistence s různými vložkami, s nábalem zejména cukru	
	Želé	Cukrovinky s konzistencí gelu vzniklou přídavkem želírujících látek, zejména pektinu, agaru, škrobu nebo želatiny	
	Rahat	Škrobové želé různých tvarů obalených směsí práškového cukru a škrobu	
	Chalva	Šlehaná kandytová hmota s pěnotvornou látkou pastovité konzistence, popřípadě s přídavkem suchých skořápkových plodů a tuku	
	Turecký med	Šlehaný cukrosirupový roztok s bílkem, popřípadě s přídavkem suchých skořápkových plodů	
	Lékořicové cukrovinky	Cukrovinky ze směsi cukru, glukosového sirupu a mouky, popřípadě dalších surovin, jejichž charakteristickou složku tvoří výtažek z lékořice	

Tabulka 1 Dělení nečokoládových cukrovinek a jejich definice dle vyhlášky č.76/2003 Sb. [1] – pokračování

Druh	Skupina	Definice skupin cukrovinek	Podskupina
	Pěnové cukrovinky (marshmallow)	Cukrovinky lehčené, pěnovité, žvýkavé konzistence, popřípadě s jemnými částicemi směsi práškového cukru nebo škrobu anebo jejich kombinací	
	Komprimáty	Cukrovinky vyráběné lisováním ochucených a obarvených práškovitých směsí, zejména ve tvaru čoček nebo tablet	
	Žvýkačky	Cukrovinka výrazně gumovité až tažné konzistence s různými příchutěmi	Balónkové (bubble gum) plátkové dražované
	Dropsy	Cukrovinky neplněné, z kandytové hmoty, složené převážně z cukrů a glukosového sirupu, různě tvarované, různé barvy a chuti, tvrdé konzistence	
	Roksy	Cukrovinky tvrdé konzistence podobné dropsům, ve tvaru špalíčků, tyčinek nebo lízátek, které mohou mít na průřezu barevné obrazce z ochucených kandytových hmot	
	Furé	Cukrovinky z kandytové hmoty, na povrchu matné, sklovité, tvrdé konzistence obsahující uvnitř minimálně 13 % polotuhé nebo tekuté náplně	S tukovou náplní s cukernou (sirupovou) náplní
	Marcipán	Cukrovinky polotuhé konzistence, různých tvarů vyrobené z nejméně 1 dílu surové marcipánové hmoty (sestávající nejméně z 50 % loupaných mandlí a nejvýše 50 % cukru) a nejvýše 1 dílu cukrové moučky, popřípadě přibarvené, upravené na povrchu sypáním, zdobením či polevou	
	Fondánové cukrovinky	Cukrovinky polotuhé až tuhé konzistence z cukerné hmoty, popřípadě s přídavkem dalších látek s jemnou krystalickou strukturou	

Experimentální část této práce se zaměřuje na výrobu nečokoládových cukrovinek typu želé, následující kapitoly se tedy budou věnovat právě jim.

2.1.1 Suroviny pro výrobu želé cukrovinek

2.1.1.1 Přírodní a náhradní sladidla

Nejběžnějším a nejčastěji užívaným sladidlem obsaženým v cukrovinkách je sacharosa, patřící dle vyhlášky č. 76/2003 Sb. spolu s tekutými výrobky z cukru, dextrosou, fruktosou a glukósovým sirupem, mezi přírodní sladidla (rozdělení viz tabulka 2) [1]. Příloha č.2 téže vyhlášky také specifikuje požadavky na vlastnosti cukru bílého a extra bílého, které se nejčastěji používají pro výrobu cukrovinek. Konkrétně se jedná o polarimetrickou čistotu, maximální obsah invertního cukru, maximální ztrátu hmotnosti sušením a barvu v roztoku měřenou při 420 nm [1; 2].

Cukr cukrovinkám poskytuje nejen sladkou chuť, ale i nezaměnitelný pocit chuťové plnosti, který se v recepturách velmi těžko nahrazuje. Vlastnosti rozhodující o použití konkrétního sladidla jsou chemická stálost, rozpustnost ve vodě, závislost bodu varu jejich roztoků na koncentraci, hygroskopicita, sladivost, energetická hodnota a maximální denní doporučená dávka. Hodnota sladivosti se nejčastěji udává ve formě relativní sladivosti vztažené ke sladivosti sacharosy, rovné jedné. Z přírodních sladidel vykazuje vyšší relativní sladivost pouze fruktosa [2].

V případě nízkoenergetických cukrovinek, cukrovinek pro diabetiky a zdravotních cukrovinek, se sacharosa a přírodní sladidla často nahrazují náhradními sladidly [2]. Jako náhradní sladidla mohou být používány výlučně látky uvedené v nařízení Evropské unie (Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1333/2008), definující potravinářské přídatné látky [3].

Za náhradní sladidla se považují látky se sladkou chutí, neřadící se mezi monosacharidy, disacharidy a med. Můžeme je rozdělit na tři základní skupiny, náhradní sladidla přírodního původu, syntetická identická s přírodními (zahrnující především cukerné alkoholy) a syntetická náhradní sladidla [4]. Dále je možné sladidla dělit z výživového hlediska, na výživová a nevýživová [5].

Tabulka 2 Požadavky na přírodní sladidla dle vyhlášky č. 76/2003 Sb. [1]

Typ přírodního sladidla	**Definice**
Cukr	Vyčištěná krystalizovaná sacharosa upravená zejména do krystalů, moučky, kostek, homolí, popřípadě doplněná přídatnými látkami, látkami určenými k aromatizaci nebo kořením
Tekutý cukr	Vodný roztok sacharosy
Tekuté výrobky z cukru	Výrobky na bázi vodných roztoků sacharosy splňující požadavky uvedené v příloze č. 2 bodě 2

Tabulka 2 Požadavky na přírodní sladidla dle vyhlášky č. 76/2003 Sb. [1] - pokračování

Typ přírodního sladidla	Definice
Tekutý invertní cukr	Vodný roztok sacharosy částečně invertované hydrolýzou, v němž nepřevažuje podíl invertního cukru a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 2
Sirup z invertního cukru	Vodný roztok sacharosy (s možnou krystalizací), která byla částečně invertována hydrolýzou, přičemž obsah invertovaného cukru musí být vyšší než 50 % hmotnostních sušiny a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 2
Glukosový sirup	Vyčištěný koncentrovaný vodný roztok cukrů vhodných k výživě člověka, získaných ze škrobu nebo inulinu, nebo jejich kombinací a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 5
Sušený glukosový sirup	Částečně vysušený glukosový sirup s nejméně 93 % hmotnostních sušiny a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 6
Dextrosa (dextrosa monohydrát, dextrosa bezvodá)	Vyčištěná krystalizovaná D-glukosa s jednou molekulou krystalové vody (monohydrát) nebo bezvodá a splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 3
Fruktosa	Vyčištěná krystalizovaná D-fruktosa, splňující požadavky stanovené v příloze č. 2 bodě 4

Glukosový sirup

Glukosový sirup je v cukrovinkářském průmyslu hojně využívanou surovinou. Řadí se mezi přírodní sladidla a získává se kyselou hydrolýzou nativního škrobu. Má vysoký obsah glukosy, definovaný hodnotou dextrosového ekvivalentu (DE) 38–42 %. DE udává zdánlivý obsah glukosy (%) v sušině hydrolyzátu [2].

Cukerné alkoholy

Cukerné alkoholy se nejčastěji používají pro výrobu cukrovinek se sníženou energetickou hodnotou a cukrovinky se sníženou schopností kazivosti zubů, především žvýkačky. Mají nižší glykemický index i energetickou hodnotu, používají se jako objemová sladidla a rovnocenně nahrazují sacharosu v recepturách. Roztoky cukerných alkoholů mají navíc vyšší body varu než roztoky sacharosy a glukosového sirupu a nepodléhají Maillardově reakci [2; 6].

Ve srovnání se sacharosou mají (vyjma xylitolu) nižší sladivost a často se kombinují se syntetickými náhradními sladidly. Zvýšený příjem těchto náhradních sladidel může způsobovat zdravotní obtíže, především se projevují projímavé účinky [2].

V následující tabulce 3 jsou vypsány nejužívanější cukerné alkoholy, povolené v rámci EU [3] a jejich vlastnosti.

Tabulka 3 Cukerné alkoholy a jejich vlastnosti [2; 4; 7; 8]

Cukerný alkohol	E kód	Popis a vlastnosti
Sorbitol	E 420	Výroba redukcí glukosy. Má poloviční sladivost sacharosy a vyšší rozpouštěcí entalpii (chladivý efekt v ústech). Využití pro výrobu žvýkaček a zdravotních cukrovinek.
Mannitol	E 421	Výroba redukcí roztoku glukosy. Izomer sorbitolu. Má poloviční sladivost sacharosy.
Xylitol	E 967	Výroba redukcí xylosy. Sladivost podobná sacharose, má antibakteriální vlastnosti, redukuje vznik zubních kazů. Stejně jako sorbitol má vysokou rozpouštěcí entalpii. Využití pro výrobu žvýkaček.
Erythritol	E 968	Výroba fermentací glukosy plísní *Moniliella pollinis*. Přirozeně se vyskytuje v hruškách.
Maltitol	E 965	Výroba redukcí maltosy. Vlastnostmi a sladivostí podobný sacharose, má nízkou hygroskopicitu a vysokou teplotu skelného přechodu. Využití pro výrobu kandytů.
Isomalt	E 953	Vlastnostmi podobný maltitolu, vykazuje nižší sladivost a vyšší stabilitu vůči chemické a enzymatické hydrolýze.
Laktitol	E 966	Výroba redukcí laktosy. Má nízkou sladivost a vykazuje probiotické vlastnosti.

Syntetická sladidla

Syntetická sladidla jsou látky s velmi intenzivní sladkou chutí a téměř žádnou energetickou hodnotou, v recepturách cukrovinek se používají ve velmi malém množství. Syntetická náhradní sladidla rovněž musí splňovat řadu podmínek. Mají mít dostatečnou sladivost, být cenově dostupné, termostabilní a mít nízkou (nebo žádnou) energetickou hodnotu. Naopak by neměla mít nepříjemnou pachuť a nesmí být karcinogenní ani mutagenní [2; 7].

V následující tabulce 4 jsou uvedena nejužívanější syntetická sladidla, povolená v EU [3] a jejich vlastnosti.

Tabulka 4 Syntetická sladidla a jejich vlastnosti [2; 4; 6; 8; 9]

Syntetické sladidlo	E kód	Popis a vlastnosti
Acesulfam K	E 950	Neenergetické sladidlo (v těle se nemetabolizuje, vylučuje se močí), termostabilní, 200x sladší než sacharosa. Často se kombinuje s dalšími sladidly, ve vyšších koncentracích má hořkou pachuť.

Tabulka 4 Syntetická sladidla a jejich vlastnosti [2; 4; 6; 8; 9] – pokračování

Syntetické sladidlo	E kód	Popis a vlastnosti
Aspartam	E 951	Sladidlo s malou energetickou hodnotou (16,7 kJ na 1 g), v těle se metabolizuje na fenylalanin, kyselinu asparagovou a methanol. Je 200x sladší než sacharosa, termolabilní. Jeho přítomnost v potravině je nutné deklarovat na obalu (pro osoby trpící fenylketonurií).
Neotam	E 961	Derivát aspartamu, 7000–8000x sladší než sacharosa. Termostabilní dipeptid kyseliny asparagové a fenylalaninu, v těle se plně metabolizuje. Stejně jako u aspartamu je nutné jeho přítomnost deklarovat na obalu.
Sukralosa	E 955	Derivát sacharosy, v těle se nemetabolizuje. Je 600x sladší než sacharosa.
Sacharin	E 954	Imid kyseliny o-sulfobenzoové, neenergetické sladidlo, 300 – 500x sladší než sacharosa, ve vodě špatně rozpustný. Jeho soli - sodná, draselná, vápenatá - jsou lépe rozpustné. Ve vyšších koncentracích má nahořklou až kovovou pachuť.
Alitam	E 956	Termostabilní sladidlo, složené z kyseliny asparagové, alaninu a aminu. V těle se metabolizuje, 2000x sladší než sacharosa.

2.1.1.2 Želírující látky

Želé cukrovinky jsou definovány, jako cukrovinky s konzistencí gelu vzniklou přídavkem želírujících látek, zejména pektinu, agaru, škrobu nebo želatiny [1]. Všechny tyto látky řadíme mezi želírující, neboli rosolotvorné látky. Jedná se o hydrofilní látky organického původu, schopné vázat velké množství vody a tvořit tak gely, polotuhé elastické látky obsahující až 50 % vody. Tvorba gelu spočívá v hydrataci želírující látky a jejím bobtnání. Zahřátím a rozpuštěním této nabobtnalé hmoty vznikne viskózní kapalina (sol), jejímž ochlazením následně vzniká gel [4].

Nejčastěji využívanými želírujícími látkami pro výrobu cukrovinek jsou želatina, modifikované škroby, agar, pektin, karagenan, xanthan, algináty a další [2].

Želatina

Želatina je částečně hydrolyzovaný kolagen, získaný z kravských a vepřových kůží a kostí krav nebo ryb. Dle typu extrakce získáváme želatinu typu A (extrakce v kyselém prostředí) a želatinu typu B (extrakce v alkalickém prostředí), které se liší technologickými vlastnostmi [2; 10].

Samotná želatina bobtná ve studené vodě, za horka (při teplotě 65 °C) se rozpouští a po vychladnutí tvoří termoreverzibilní gel. Potravinářská želatina je dostupná ve formě plátků

nebo prášku, je bezbarvá, bez chuti a zápachu. Využívá se nejen při výrobě želé cukrovinek, ale i cukrovinek typu marshmallow a karamel, kde zastává funkci pěnotvorného činidla a zabraňuje krystalizaci cukrů [2; 10].

Modifikované škroby

Jako škroby pro výrobu cukrovinek se využívají řídce vařivé škroby, škroby zesítěné, škroby s vyšším obsahem amylosy. Jako želírující látky se využívají pro výrobu orientálních cukrovinek typu rahat lokum, neboli *Turkish delight* [2].

Agar

Agar je heteropolysacharid buněčných stěn červených mořských řas. Je tvořen jednotkami D-galaktosy spojovanými β (1-4) vazbami a 3,6-anhydro-L-galaktosou spojovanými α (1-3) vazbami. Struktura dále obsahuje 6-O-methylgalaktosu a malé množství sulfátů. Agar tvoří termoreverzibilní gel při koncentraci 0,2 %. V roztoku horké vody tvoří koloidní roztok a gelovatí už při ochlazení na 45 °C. Snadno podléhá kyselé hydrolýze, kyseliny se do receptur obsahujících agar přidávají za nižších teplot (do 60 °C). Jeho přítomnost v potravinách se označuje kódem E 406 [2; 10].

Pektin

Pektin je heteropolymer kyseliny D-galakturonové, ve formě volné kyseliny, soli (sodné, vápenné, draselné, nebo amonné) nebo methylesteru. Dle esterifikace dělíme pektin na vysoce esterifikovaný (HM), nízko esterifikovaný (LM) a amidovaný. HM pektiny mají stupeň esterifikace větší než 50 %, gely tvoří při pH 3,0–3,5 a obsahu sušiny více jak 65 %. LM pektiny mají stupeň esterifikace méně jak 50 % a tvorba jejich gelu závisí na přítomnosti vápenatých iontů. LM pektiny tvoří gely při pH 2,6–6,8 a obsahu sušiny 10–80 %. Amidace pektinů modifikuje jejich gelotvorné schopnosti [2; 10; 11].

Pektin pro výrobu cukrovinek získáváme extrakcí z citrusových slupek a jablečných výlisků. Jeho přítomnost v potravinách se označuje kódem E 440 [2].

Karagenan

Karagenan, je stejně jako agar, polysacharid červených mořských řas. Strukturně je velmi podobný, rovněž se skládá z jednotek D-galaktosy, liší se však zastoupením 3,6-anhydrogalaktosy a obsahem sulfátů. Jeho přítomnost v potravinách se označuje kódem E 407 [2].

2.1.1.3 Leštící látky

Leštící látky, tedy vosky a laky, se využívají především pro výrobu dražé. Při výrobě želé cukrovinek se využívají především pro zlepšení vzhledu. Vosky jsou estery vyšších alkoholů s vyššími mastnými kyselinami a pro výrobu cukrovinek se používají vosky jak živočišného, tak rostlinného původu. Nejčastěji využívanými vosky je vosk včelí (E 901), vosk karnaubský (E 903) a syntetický krystalický vosk Microwax (E 907) [2].

Z laků se využívá především ethanolický roztok šelaku (E 904), pryskyřice produkované červcem lakovým (*Kernia lacca*) [2].

2.1.1.4 Barviva

Barvivy se rozumí látky dodávající potravině barvu, kterou by bez jejich použití neměla, nebo ji obnovují po technologickém procesu, při kterém došlo k jejímu zeslabení nebo poškození. Barviva můžeme dělit na přírodní, přírodně identická a syntetická [5]. Seznam v EU povolených přírodních i syntetických barviv je uveden v tabulce 5 [3].

Jako přírodní barviva jsou definovány látky, které potravině dodávají barvu a zahrnují přírodní složky potravin a přírodních zdrojů, které obvykle nejsou požívány jako potraviny a nepovažují se za charakteristické složky potravin. Přírodní barviva jsou sice většinou zdravotně nezávadná, jsou ale chemicky málo stabilní, mohou ovlivňovat chuť a vůni výrobku a produkty s nimi mohou být náchylnější k mikrobiálnímu kažení. U přírodních barviv je navíc jejich barva často ovlivněna zdrojem, ze kterého se získávají (geografický původ, sezóna) a nemusí být tedy zajištěna shodnost jednotlivých šarží. V neposlední řadě mohou přírodní barviva kontaminovat potravinu toxickými kovy, insekticidy, herbicidy anebo mikroorganismy [3].

Syntetická barviva mají oproti přírodním řadu, především technologických, výhod. Jsou levnější, často mívají intenzivnější a stabilní barvu a neovlivňují chuť ani vůni potravin. Často jsou jim ale připisovány negativní toxikologické účinky. Konkrétně se jedná o tartazin, chinolinovou žluť, žluť SY, azorubin, ponceau 4R a červeň AC, které mohou u dětí způsobovat hyperaktivitu, alergie, kopřivku anebo astma [5; 12].

Tabulka 5 Seznam v EU povolených přírodních a syntetických barviv, E kódy a barvy [3]

Přírodní barviva (E kód)	**Syntetická barviva (E kód)**	**Barva**
Kurkumin (E 100) Riboflavin (E101) Lutein (E 161b)	Tartrazin (E 102) Chinolinová žluť (E 104) Žluť SY (E 110)	Žlutá
Karoteny (E 160a)	-	Oranžová
Betanin (E 162) Anthokyany (E 163)	Ponceau 4R (E 124) Erythrosin (E 127) Červeň AC (E 129) Litholrubin BK (E 180)	Červená
Košenila (E 120)	Azorubin (E122) Amarant (E 123)	Červenomodrá
Chlorofyly a chlorofiliny (E 140) Měďnaté komplexy chlorofylů a chlorofylinů (E 141)	Zeleň S (E 142)	Zelená

Tabulka 5 Seznam v EU povolených přírodních a syntetických barviv, E kódy a barvy [3] - pokračování

Přírodní barviva (E kód)	**Syntetická barviva (E kód)**	**Barva**
-	Patentní modř V (E 131) Indigotin (E 132) Brilantní modř FCF (E 133)	Modrá
Karamel (E 150a)	Hněď HT (E 155)	Hnědá
Rostlinná uhlíková čerň (E 153)	Brilantní čerň PN (E 151)	Černá
Uhličitan vápenatý (E 170), Oxid titaničitý (E 171), Oxidy a hydroxidy železa (E 172), Hliník (E 173), Stříbro (E 174), Zlato (E 175)		Další

2.1.1.5 Aromata

Aromatické přípravky, používané pro úpravu chuti a vůni potraviny, jsou nejčastěji směsi látek přírodního i syntetického původu. Přírodní aromata mohou být rostlinného, živočišného nebo i mikrobiálního původu. Protože se jedná o směsi, nelze aromatické přípravky řadit mezi přídatné látky a upravovat jejich použití legislativou aditivních látek [2]. Seznam povolených aromatických látek upravuje nařízení Komise EU č. 872/2012 [13].

Aromatické látky přidávané do cukrovinek je nutné volit podle jejich receptury. Cukrovinky s převahou vody v receptuře, kam patří i želé cukrovinky, se aromatizují vodorozpustnými aromaty, nejčastěji rozpuštěnými v triacetinu (1,2,3-triacylglycerolu), při teplotě nižší než 100 °C. Cukrovinky obsahující více jak 10 % tuku se aromatizují olejovými tekutými aromaty nebo tukovými pastami [2].

2.1.1.6 Látky upravující kyselost

Látkami upravujícími kyselost jsou definovány takové látky, které mění nebo řídí kyselost nebo alkalitu potraviny [3]. Nejčastěji se jedná o kyseliny, konkrétně citronová (E 330), mléčná (E 270), jablečná (E 296), vinná (E 334) a jejich soli a vitamin C (E 300) neboli kyselina askorbová. Kyseliny se podílí nejen na tvorbě charakteristické chuti cukrovinek, ale v recepturách také přispívají k tvorbě gelů. Přídavek kyselin v technologii, především za vyšší teploty, může způsobit i nežádoucí inverzi sacharosy [2].

2.1.2 Technologie výroby želé cukrovinek

Želé cukrovinky jsou vyráběny ze sacharosy, glukosového sirupu a želírující látky. Jedná se o cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharosou a během technologie výroby je nutné dbát na zamezení krystalizace sacharosy. Rovněž je třeba vytvořit optimální podmínky pro želírující schopnosti jednotlivých rosolotvorných látek – množství sušiny, teplota a pH cukrosirupového roztoku [2].

2.1.2.1 Želatinové želé

Výroba želatinového želé vychází z dvou základních kroků, příprava cukrosirupového sirupu a příprava želatinového roztoku. Cukrosirupový roztok se připravuje smícháním sacharosy a glukosového sirupu v poměru 2 : 1 až 1 : 1, následně se záhřevem odpaří na dané množství sušiny a ochladí. Želatina se nechá nabobtnat ve studené vodě a smíchá se s cukrosirupovým roztokem. Přídavkem kyseliny, nejčastěji kyseliny citronové, se upraví pH roztoku na hodnotu odpovídající želírujícím vlastnostem želatiny (pod pH 3,8 u želatiny získané extrakcí v kyselém prostředí a pod pH 5,0 u želatiny získané extrakcí v alkalickém prostředí). Tradičně se želatinové cukrovinky získávají litím do škrobových forem. Jejich povrch je pak možné upravit suchým kandýrováním [2; 14].

2.1.2.2 Pektinové želé

Podmínky pro výrobu pektinového želé se liší dle druhu použitého pektinu. Vysoce esterifikované (HM) pektiny tvořící jemné, nejčastěji ovocné, želé vyžadují rozsah pH 2,8–3,5 a obsah sušiny až 78 %. Nízko esterifikované (LM) pektiny tvoří pružné želé, vyžadují pH nižší než 6,5 a místo vysokého obsahu sušiny přítomnost vápenatých iontů. Amidované pektiny jsou co se podmínek týče, kombinací HM a LM pektinů. Stejně jako HM pektiny vyžadují vysoký obsah sušiny a pH pod 3,5. Gely poskytují, stejně jako LM pektiny, v přítomnosti vápenatých iontů, jsou ale mnohem citlivější na jejich koncentraci a pro vytvoření gelu postačí takové množství, které se přirozeně vyskytuje v ovoci. Gely získané z HM a amidovaného pektinu nejsou termoreverzibilní, naopak gely z LM pektinu jsou [10; 11].

Výroba pektinových cukrovinek začíná smísením potřebného množství pektinu (1–1,5 %) se sacharosou, aby při rozpouštění ve vodě netvořil hrudky. Obsah sacharosy nemůže tvořit více jak 20 %, jinak by se pektin špatně rozpouštěl. Roztok pektinu se sacharosou se přivede k varu do rozpuštění pektinu. Následně se přidá sacharosa a glukosový sirup odpovídající konkrétnímu množství sušiny. Rovněž se přidá část kyseliny, případně vápenaté soli. Po svaření a částečném ochlazení se k roztoku přidá zbývající množství kyseliny a hmota se nalije do škrobových forem. I povrch pektinových cukrovinek je možné upravovat suchým kandýrováním [2; 10; 11].

2.1.2.3 Škrobové želé

Výroba škrobového želé vychází z přípravy suspenze škrobu (9–12 hm. %), sacharosy a glukosového sirupu ve vodě. Tato suspenze se zahřívá na teplotu 71–82 °C, škrobová zrna postupně bobtnají, absorbují vodu až dojde k jejich rozpadu a vzniku roztoku. Následně se k roztoku přidá kyselina, případně jiná aditiva a vzniklá hmota se lije do škrobových forem [2].

2.1.2.4 Agarové želé

Agarové želé se vyrábí smísením práškového agaru (1–1,5 hm. %) s vodou, glukosovým sirupem a sacharosou. Směs se zahřívá na 87–95 °C, kdy se agar rozpouští. Po částečném ochlazení se přidá kyselina a hmota se nalévá do škrobových forem. Získané cukrovinky se následně upravují suchým kandýrováním [2; 15].

2.1.3 Současné trendy při výrobě želé cukrovinek

Aktuálně se výroba želé cukrovinek ubírá směrem cukrovinek méně zpracovaných, se sníženým obsahem cukrů a za použití co nejvíce přírodních ingrediencí, především ovoce a bylin.

Vyrábí se želé cukrovinky s přídavky bylinných extraktů, za účelem zvýšení obsahu bioaktivních látek a zachování senzorické kvality. Cedeño-Pinos a kol. [16] se věnovali výrobě želé cukrovinek s přídavkem extraktu ze šalvěje rozmarýny. Přídavek extraktu 0,26 g do kilogramu cukrovinek zvýšil obsah polyfenolických látek ze 197 na 411 μg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE) na gram a antioxidační aktivitu z 1,77 na 4,14 μg ekvivalentu Troloxu (TE) na gram. Rovněž Cedeño-Pinos a kol. [17] se věnovali přídavku vodných extraktů šalvěje levandulolisté. Přídavek 0,75 g na kg hmoty způsobil vzrůst obsahu polyfenolů z 30 na 38 μg GAE/100 g.

Populární jsou také želé cukrovinky s přídavkem ovoce, jak ve formě slupek, dužiny, pyré, tak i džusů. Nurhafsah a kol. [18] se ve své studii věnovali vývoji receptury cukrovinek s přídavkem slupek a dužiny dračího ovoce a jeho vlivu na chemické složení cukrovinek, obsah vody, vitaminu C a senzorickou přijatelnost. Miranda a kol. [19] vyvinuli recepturu želé cukrovinek s příchutí acai (*Euterpe edulis M.*) a mučenky jedlé, s přídavkem *Bacillus coagulans*. Tyto cukrovinky nejen, že byly velmi dobře přijaty hodnotiteli při senzorické analýze, ale byla u nich potvrzena i probiotická aktivita.

Ovoce je v receptuře cukrovinek možné využít i jako přírodní barvivo schopné nahradit syntetická barviva. Použití arónioového extraktu (1,5 % hm.) jako vhodnou náhradu za barvivo azorubin potvrdili ve své studii Ghendov-Mosanu a kol. [20]. Cukrovinky s extraktem navíc vykazovaly vyšší antimikrobiální aktivitu než cukrovinky s azorubinem.

Dalším trendem ve výrobě cukrovinek je snižování jejich energetické hodnoty a obecně množství přidaných cukrů. Mutlu a kol. [21] ve své studii nahradili cukr v receptuře želatinových cukrovinek medem. Rivero a kol. [22] se věnovali recepturám s náhradními sladidly – isomalt, maltosový sirup a stévie. V senzorickém hodnocení nebyly kromě textury pozorovány výrazné rozdíly mezi cukrovinkami s náhradními sladidly a cukrem. Tyto zdravější alternativy ale často nejsou pro spotřebitele tak atraktivní, jako jejich komerční protějšky. Teixeira-Lemos a kol. [23] ve své studii srovnávali želatinové cukrovinky s přídavkem pomerančového džusu a pyré z míchaného boulovitého ovoce s komerčními cukrovinkami, a ač byly dobře přijaty obě varianty, hodnotitelé preferovali ty komerční.

Také želatina, jakožto nejpoužívanější želírovací činidlo se vyvíjí. Nurwantoro a kol. [24] pro výrobu cukrovinek využili želatinu z králičí kůže. Takto připravené cukrovinky byly srovnány s cukrovinkami z komerční želatiny. Hodnotitelé během senzorického hodnocení rozlišili tyto vzorky pouze dle barvy, kdy králičí želatina byla zakaleně bílá, zatímco komerční kravská byla průsvitná, jinak se vzorky shodovaly.

2.2 Aromatické látky

Aromatickými látkami se rozumí všechny vonné a chuťové látky působící na čichové anebo chuťové receptory. Takto vyvolaný komplexní vjem chuti a vůně se nazývá flavour. Vonné i chuťové látky lze dle původu vzniku dělit na primární a sekundární senzoricky aktivní látky [25].

Chuťové látky jsou nejčastěji polární, ve vodě rozpustné netěkavé látky. Působí na chuťové receptory v ústní dutině. Člověk je schopen rozpoznávat základní chutě – sladkou, slanou, kyselou, hořkou, umami – ale i trpkou nebo pálivou chuť a další [25].

Vůně potravin je často komplexním vjemem vyvolaným větším množstvím vonných látek. Intenzita a kvalita vůně pak závisí i na dalších složkách potravin, především na sacharidech, bílkovinách a lipidech, se kterými vonné látky interagují. Vonné látky jsou nejčastěji málo polární a nepolární těkavé látky působící na čichové receptory [25].

Mezi aromatické látky patří více jak 25 000 látek, tyto látky je možné zařadit mezi uhlovodíky, alkoholy, ethery, aldehydy, ketony, acetaly a ketaly, karboxylové kyseliny, funkční deriváty karboxylových kyselin, fenoly, sirné sloučeniny a heterocyklické sloučeniny [25; 26].

2.2.1 Primární aromatické látky

Primární senzoricky aktivní látky jsou již přítomny v potravinách, jako produkty sekundárního metabolismu živočichů, rostlin nebo mikroorganismů. Jsou produkovány vnitrobuněčnými procesy a jejich kvalita a kvantita závisí především na genetických dispozicích daného organismu [25].

2.2.2 Sekundární aromatické látky

Sekundární senzoricky aktivní látky, jsou v potravině přítomny ve vázané, senzoricky inaktivní formě, nejčastěji ve formě glykosidů a esterů. Z těchto sloučenin se senzoricky aktivní látky uvolňují působením enzymů, konkrétně hydroláz esterů karboxylových kyselin a glukosidáz. Dále mohou vznikat během skladování a zpracování potravin reakcí produktů primárního metabolismu (sacharidy, bílkoviny, lipidy) a dalších látek (vitaminy, barviva). Případně během tepelného nebo fermentačního zpracování potravin. Z chemických reakcí vzniku sekundárních senzoricky aktivních látek se uplatňují především autooxidační reakce, Maillardova reakce a reakce enzymového hnědnutí [25].

2.2.3 Aromatické látky v cukrovinkách

Publikací zaměřených na aroma cukrovinek je poměrně málo a většinou se věnují uvolňování aroma během konzumace. Uvolňování aromatických látek z cukrovinek je výrazně ovlivněno jejich složením. Přítomnost hydrokoloidů nebo vyšších koncentrací cukru v receptuře snižuje uvolňování aroma. Zhang a Barringer [27] studovali uvolňování těkavých látek z jahodových cukrovinek za použití želatiny, pektinu, škrobu. Pomocí headspace metod bylo zjištěno, že k nejvyššímu zadržování aroma dochází u cukrovinek se želatinou. Jahodovým cukrovinkám se věnovali i Pizzoni a kol. [28], ti zkoumali uvolňování přírodního a přírodně identického

aroma z jahodových želé cukrovinek pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí a elektronického nosu. V cukrovinkách byly identifikovány, mimo jiné, ethylbutanoát, limonen a v těch s přírodně identickým aroma navíc značné množství ethanolu.

Elektronický nos pro sledování uvolňování aroma z želé cukrovinek při skladování používali i Ballen a kol. [29]. Byly použity cukrovinky s příchutí jablka, jahod a hroznů a byly sledovány po dobu 120 dnů. Kapp a kol. [30] se pak zabývali cukrovinkami s mátovou příchutí. U nich byla pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí stanovena celá řada aromatických látek, především limonen, eukalyptol, menthofuran, isomenthon, menthol a menthylacetát. U mátových extraktů použitých na výrobu cukrovinek byla navíc potvrzena antimikrobiální aktivita proti *E. coli* a *S. aureus*.

2.3 Charakteristika vybraného rostlinného materiálu – brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*)

Brusnice borůvka, dále jen borůvka, latinsky *Vaccinium myrtillus*, je vytrvalý keř čeledi vřesovcovité (*Ericaceae*) rodu brusnice (*Vaccinium*), zahrnujícího přes 450 druhů stálezelených rostlin. Dosahuje výšky 35–60 cm a roste v jehličnatých lesích, na vřesovištích a loukách především severní Evropy (viz obrázek 1). Jméno získaly borůvky z dánského slova „bollebar“ znamenající tmavé bobule. Plody borůvky jsou modrofialové s červenofialovou dužinou, kulovité a dosahují průměru 5–9 mm. Dozrávají v období od července do září, v závislosti na jejich geografické poloze a klimatu. Borůvky mají vyváženou sladkokyselou chuť a příjemné aroma [31–33].

Borůvka je běžně známá jako superpotravina, obsahuje velké množství bioaktivních látek, konkrétně anthokyanů, antioxidantů, vitaminu C, karotenoidů, fenolických kyselin atd. V přírodní medicíně se borůvky dlouhodobě využívají pro léčbu poruch zraku, hyperglykémie, diabetu, obezity, žlučových poruch, močových kamenů, zánětlivých a kardiovaskulárních chorob [34–36]. Konzumují se a jsou komerčně dostupné především ve formě bobulí (čerstvých, mražených, sušených), šťáv, čajů, džemů, cukrovinek, vín, lihovin apod. [31; 32].

Krom plodů jsou z borůvek využívány i listy a to především k výrobě odvarů. Není ale doporučeno je konzumovat ve větší míře. Rovněž obsahují řadu bioaktivních látek, konkrétně flavonoly, hydroxyskořicové kyseliny a proanthokyanidy [31; 33].

Obrázek 1 Brusnice borůvka (Vaccinium myrtillus) – místo růstu a plody (foceno při sběru)

2.3.1 Nutriční složení brusnice borůvky

Nutriční složení borůvek i obsah bioaktivních látek silně závisí na podmínkách růstu borůvek, geografické poloze, nadmořské výšce, klimatu, přístupu ke světlu atd. Uvedené nutriční hodnoty (viz tabulka 6) jsou vyjádřeny pro borůvky nasbírané v České republice. Borůvky obsahují až 86 % vody a jejich pH se pohybuje v rozmezí 2,77–3,35 [34–36]. Z živin jsou nejvíce zastoupené cukry, avšak jejich obsah je i tak poměrně nízký a pohybuje se od 38 do 63 g/kg čerstvých plodů, nejvíce jsou zastoupeny glukosa a fruktosa, zatímco sacharosa tvoří pouze 2–3 % celkových cukrů [34].

Tabulka 6 Základní nutriční složení plodů brusnice borůvky z České republiky vyjádřené na 100 g čerstvých plodů [35; 36]

Název nutrientu	**Jednotka**	**Hodnota**
Energetická hodnota	kJ	213,4
Celkové bílkoviny	g	0,7
Celkové tuky	g	0,6
Celkové sacharidy	g	12,3
Sacharidy využitelné	g	8,9
Vláknina	g	3,4

Tabulka 6 Základní nutriční složení plodů brusnice borůvky z České republiky vyjádřené na 100 g čerstvých plodů [35; 36] - pokračování

Název nutrientu	**Jednotka**	**Hodnota**
Celková voda	g	86,1
Popel	g	0,3

Borůvky obsahují významné množství organických kyselin, podílejících se na jejich senzorickém profilu, Hlavními zástupci jsou kyselina citronová, chinová a jablečná, tvořící téměř 100 % celkových kyselin [34]. Borůvky jsou rovněž dobrým zdrojem mikronutrientů, obsahují minerální látky (především draslík), karotenoidy (především lutein) a vitamin C. Obsah vitaminu C se pohybuje v rozmezí 8–44 mg/ 100 g čerstvých plodů [36].

Hlavními složkami olejů ze semen borůvek jsou polynenasycené mastné kyseliny, konkrétně kyselina linolová a α-linolenová. Vykazují antimikrobiální aktivitu a získávají se především ze zbytků po lisování borůvek [35; 37].

Podrobné nutriční složení borůvek z České republiky je uvedeno v tabulce 7.

Tabulka 7 Rozšířené nutriční složení plodů brusnice borůvky z České republiky vyjádřené na 100 g čerstvých plodů [35; 36]

Název nutrientu	**Jednotka**	**Hodnota**
Vitaminy		
Vitamin B1 (thiamin)	mg	0,01
Vitamin B2 (riboflavin)	mg	0,02
Vitamin C	mg	15,7
Provitaminy vitaminu A (karotenoidy)	μg	34
Vitamin E (α-tokoferol)	mg	0,57
Minerální látky		
Sodík	mg	4
Hořčík	mg	3
Fosfor	mg	14
Draslík	mg	66
Vápník	mg	13
Železo	mg	0,7

Tabulka 7 Rozšířené nutriční složení plodů brusnice borůvky z České republiky vyjádřené na 100 g čerstvých plodů [35; 36] - pokračování

Název nutrientu	**Jednotka**	**Hodnota**
Cukry		
Fruktosa	g	3,6
Glukosa	g	2,6
Sacharosa	g	0,2
Mastné kyseliny		
Kyselina palmitová (C 16:0)	g	0,02
Kyselina olejová (C 18:0, n-9)	g	0,07
Kyselina linolová (C 18:2, n-6)	g	0,17
Kyselina α-linolenová (C 18:3, n-3)	g	0,22

2.3.2 Bioaktivní látky brusnice borůvky

Borůvky obsahují velké množství bioaktivních látek, vitaminy, provitaminy, deriváty kyseliny hydroxyskořicové (kyselina kávová a chlorogenová), flavonolové glykosidy (kvercetin, kaempferol, myricetin), flavan-3-oly, proanthokyanidiny a především anthokyany [34].

2.3.2.1 Fenolické látky

Fenolické látky jsou sekundární metabolity rostlin, působící jako obranné sloučeniny proti stresovým vlivům prostředí. Chrání rostlinu před UV zářením, nepříznivým teplotám, nedostatku živin, patogeny a býložravci [33]. Z chemického hlediska se jedná o sloučeniny složené z jednoho nebo více aromatických kruhů s napojenými hydroxylovými (-OH) nebo methoxy (-OCH_3) skupinami. Dle počtu a polohy funkčních skupin je dělíme na fenolové kyseliny (kyseliny hydroxybenzoové a hydroxyskořicové), kumariny, flavonoidy (flavonoly, flavony, flavanony, anthokyanidiny, flavanoly), lignany a ligniny, taniny, tokoferoly a tokotrienoly. Díky své schopnosti se oxidovat vykazují antioxidační aktivitu, tedy schopnost působit proti volným radikálům a zhášet je [25; 38].

Mezi celkovým obsahem fenolů a polyfenolů borůvek a jejich antioxidační aktivitou byla pozorována pozitivní korelace (r = 0,88–0,91[1]), je tedy možné předpokládat, že množství fenolických látek má vliv na antioxidační aktivitu. Rovněž mezi celkovým obsahem anthokyanů a antioxidační aktivitou byla nalezena jistá pozitivní korelace [39].

V borůvkách byla identifikována celá řada fenolických látek. Mezi ty nejčastěji zastoupené se řadí anthokyaniny, flavonolové glykosidy (především sloučeniny kvercetinu, kaempferolu a méně i myricetinu) [34]. Dále jsou hojně zastoupeny fenolické kyseliny, konkrétně deriváty kyseliny hydroxyskořicové (kyselina kávová a chlorogenová) [40]. V malém množství, asi 2–

[1] r – korelační koeficient

3 % celkových fenolických látek, se v borůvkách vyskytuje také katechin a epikatechin, jejich obsah ale během zrání klesá [34].

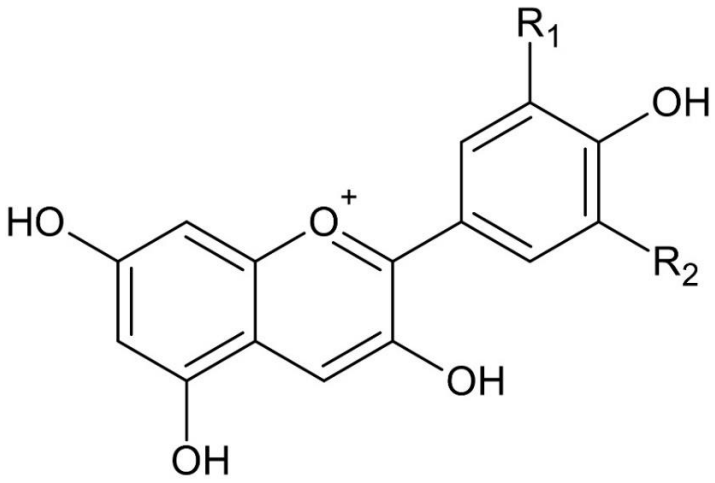
Celkový obsah fenolů a polyfenolů v plodech brusnice borůvky se často liší, pohybuje se v rozmezí 147–1152 mg_{GAE} na 100 g čerstvých plodů [32; 34–36; 42].

Antioxidační aktivita plodů brusnice borůvky se stejně jako obsah fenolických látek často liší a pohybuje se v rozmezí 6090–10600 μmol_{TE} na 100 g čerstvých plodů stanovením metodou s ABTS [39] a 1800–1810 μmol_{TE} na 100 g čerstvých plodů metodou FRAP [38].

2.3.2.2 Anthokyany

Anthokyany jsou nejrozsáhlejší skupinou rostlinných barviv. Řadí se mezi flavonoidy a tedy i mezi polyfenolické látky. Anthokyany se vyskytují ve formě glykosidů, cukernou část v molekule anthokyanů borůvek zastupuje D-glukosa, L-rhamnosa, D-galaktosa, D-xylosa a L-arabinosa. Aglykonovou část, anthokyanidin (viz obrázek 2), u borůvek zastupuje kyanidin, delfinidin, malvidin, petunidin a peonidin (viz tabulka 8) [25; 39].

Anthokyany tvoří až 90 % celkového obsahu polyfenolických látek v borůvkách [36].



Obrázek 2 Chemická struktura anthokyanidinu – R1 a R2 viz Tabulka 8 [25; 34; 41]

Tabulka 8 Anthokyanidiny – chemická struktura a zastoupení v anthokyanech borůvek [25; 34; 41]

Anthokyanidin	**R1**	**R2**	**Barva**	**Zastoupení v borůvkách**
Kyanidin	OH	H	Fialová	52 %
Delfinidin	OH	OH	Purpurově modrá	27 %
Malvidin	OCH_3	OCH_3	Purpurová	8 %
Petunidin	OCH_3	OH	Purpurově modrá	7 %
Peonidin	OCH_3	H	Fialová	6 %

Barva anthokyanů je silně závislá na pH prostředí. Při pH 1,0 a nižším se vyskytují ve formě červeně zbarvených flavyliových solí. Zvyšováním pH přechází na bezbarvou karbinolovou

pseudobázi a při dosažení pH 4,0–4,5 dochází k úplnému odbarvení. Dalším zvyšováním pH přechází na červenou neutrální chinoidní bázi. V rozmezí hodnot pH 7,5–8,0 vzniká modrý aniont chinoidní báze a dalším zvyšováním pH dochází k vzniku žlutého chalkonu [25].

Anthokyany jsou ve vodě rozpustná barviva, především fialové až purpurově modré barvy. Svou barvu si zachovávají interkopigmentací (interakcí s jinými flavonoidy), intrakopigmentací (acylované formy) a interakcemi s jinými složkami potravin. Koncentrace cukrů vyšší jak 20 % má na anthokyany stabilizační účinek. Snížením vodní aktivity si anthokyany udrží stabilitu a jsou vhodnými barvivy do marmelád a cukrovinek, uváděnými pod kódem E 163 [25; 42].

Borůvky jsou jedním z nejbohatších zdrojů anthokyanů, obsahují je jak ve slupce, tak i v dužině. Obsah se liší s úrovní zralosti, s geografickými a fytoklimatickými podmínkami [39]. Pohybuje se v rozmezí 300–700 mg na 100 g čerstvých plodů [31; 43].

2.3.3 Aromatické látky brusnice borůvky

Aromatickým těkavým látkám plodů planě rostoucí brusnice borůvky se věnuje velmi málo studií. Aromatický profil borůvek je navíc silně ovlivněn jejich místem původu, data tedy nejsou příliš konzistentní. Souhrnný článek Sater a kol. [44] uvádí 99–109 identifikovaných těkavých látek v plodech a 24–53 těkavých látek ve vylisované šťávě.

Profil těkavých aromatických látek byl jako první studován Hirvi a Honkanenem [45]. Ti analyzovali lisované šťávy borůvek a identifikovali 53 těkavých látek, s nejvíce zastoupenou kyselinou octovou a máselnou, benzylalkoholem, kyselinou 2-methylbutanovou, (Z) hex-3-en-1-olem, (E) hexen-2-alem a pentan-1-olem.

Studie Rohloff a kol. [46] pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí studovala aromatický profil 32 vzorků borůvek z celého Norska. Ve vzorcích bylo stanoveno 132 potenciálně aromatických látek, z toho 99 látek bylo identifikováno. Vzorky obsahovaly 66 alifatických uhlovodíků (29 esterů, 15 aldehydů, 10 alkoholů, 8 ketonů, 4 karboxylové kyseliny), 23 terpenů (21 monoterpenů, 2 seskviterpeny) a 10 aromatických uhlovodíků. Více jak 90 % identifikovaných sloučenin bylo zastoupeno ve všech vzorcích. Nejhojněji zastoupené sloučeniny patřily do skupiny C6-struktur, tzv. „těkavých látek zelených listů[2]“, monoterpenů a aldehydů. Konkrétně se jednalo o hexan-2-on, (Z) hexen-3-al, (E) hexen-2-al, (Z) hexen-2-al, ethyl-3-methyl-butanoát, (E) hex-2-enyl acetát, (Z) hex-3-enyl acetát, eukalyptol, linalool, nonanal, a dekanal [46; 47].

Charakteristická vůně borůvek je definována přítomností esterů, které jim dodávají ovocnou vůni a přítomností, i když v menším zastoupení, terpenů. Eukalyptol dodává borůvkám mentholové aroma; α-terpinen, p-cymen, limonen a geranial citrusové; β-myrcen, ocimen, γ-terpinen a terpinolen bylinné a kořeněné; a linalool se svým acetátem květinové aroma [46].

[2] Těkavé látky zelených listů, „Green Leaf Volatiles“, tj. šestiuhlíkaté aldehydy, alkoholy a estery, jejichž kombinace vede k vytvoření tzv. zeleného aroma [47].

2.3.4 Srovnání brusnice borůvky s dalšími zástupci rodu brusnice (*Vaccinium*)

Rod brusnice (*Vaccinium*) zahrnuje asi 450 rozmanitých druhů rostlin. Kromě brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus*) zahrnuje i brusnici brusinku (*Vaccinium vitis-idaea*), klikvu bahenní (*Vaccinium oxycoccos*), brusnici vlochyně (*Vaccinium uliginosum*), brusnici chocholičnatou (*Vaccinium corymbosum*), brusnici úzkolistou (*Vaccinium angustifolium*), klikvu velkoplodou (*Vaccinium macrocarpon*) a další (viz obrázek 3) [44].

Plody brusnice chocholičnaté jsou větší, ale obsahují méně bioaktivních látek než plody brusnice borůvky, především z toho důvodu, že jejich dužina neobsahuje anthokyany. Studie Colac a kol. [32] v plodech brusnice chocholičnaté stanovila celkový obsah fenolických látek 327 mg_{GAE} na 100 g čerstvých plodů a celkový obsah anthokyanů 142 mg ekvivalentu kyanidin 3-glukosidu (C3G) na 100 g čerstvých plodů. Množství fenolických látek a anthokyanů u brusnice borůvky bylo až dvojnásobné.

K obdobnému závěru došla i studie Ancillotti a kol. [48], ti se věnovali stanovení bioaktivních látek v plodech vlochyně náholní (*Vaccinium uliginosum subsp. gaultherioides*), poddruhu vlochyně bahenní, rostoucí v Italských horách. Ta obsahovala podstatně menší množství bioaktivních látek než brusnice borůvka. Rovněž se lišily složením fenolických látek, pro brusnici borůvku typické delfidin a kyanidin glykosidy a kyselina chlorogenová jsou u vlochyně náholní nahrazeny deriváty malvidinu a flavonoly.

Rovněž brusnice brusinka obsahuje velké množství fenolických látek a vykazuje vysokou antioxidační aktivitu, hodnoty jsou srovnatelné s brusnicí borůvkou. Celkový obsah fenolických látek se pohybuje v rozmezí 360–760 mg na 100 g čerstvých plodů a obsah anthokyanů v rozmezí 27,4–52,6 mg na 100 čerstvých plodů kultivovaných brusinek a 33,0–77,5 mg na 100 g čerstvých plodů brusinek planě rostoucích. Hlavním anthokyanem brusinek je kyanidin-3-galaktosid, zastávající až 82,5 % celkových anthokyanů [49].

Hlavními fenolickými látkami klikvy bahenní, rovněž známé jako Evropské brusinky, jsou anthokyany, proanthokyany a flavonoly, především kvercetin. Ta se od brusnice borůvky liší nejen barvou a velikostí plodů, ale i výrazně menším obsahem anthokyanů. Ten dosahuje hodnot v rozmezí 12,4–207,3 mg na 100 g čerstvých plodů [50].

Obrázek 3 Plody rodu Vaccinium: zleva brusnice borůvka, brusnice chocholičnatá, vlochyně bahenní, brusnice brusinka, klikva bahenní [51]

2.4 Metody stanovení bioaktivních látek

Součástí práce bylo stanovení antioxidační aktivity, celkového obsahu polyfenolů a celkového obsahu anthokyanů v cukrovinkách, brusnici borůvce a extraktu z brusnice borůvky.

2.4.1 Stanovení antioxidační aktivity

Mezi látky s antioxidační aktivitou řadíme celou škálu bioaktivních látek rostlinného, živočišného i mikrobiálního původu. Jedná se o fenolické kyseliny (deriváty kyseliny hydroxyskořicové a hydroxybenzoové), flavonoidy (flavonoly, flavanoly, flavanony, anthokyanidiny, isoflavonoidy atd.), vitaminy (vitamin A, C, E, K), provitaminy (karotenoidy), kofaktory (koenzym Q 10) nebo třeba minerální látky (zinek, selen) [52; 53].

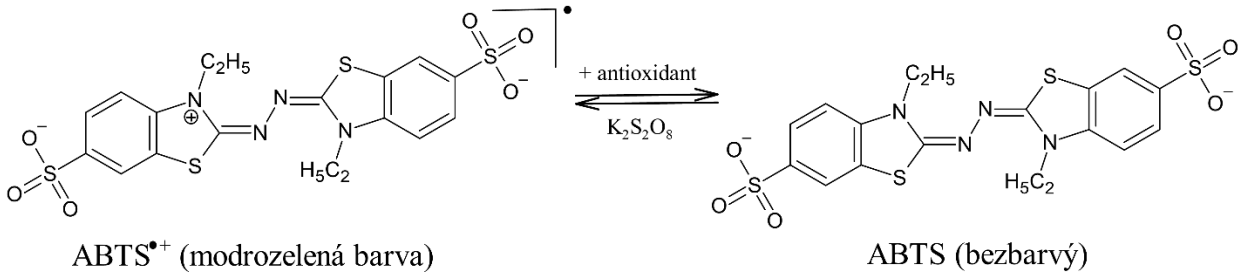
Metody stanovení antioxidační aktivity je možné rozdělit na metody založené na přenosu vodíkového atomu, metody založené na přenosu nepárového elektronu a kombinované metody založené na eliminaci stabilního chromoforu. Metody stanovení také můžeme dělit na spektrometrické, elektrochemické a chromatografické [52].

Z analytického hlediska jsou metody stanovení antioxidační aktivity a celkového obsahu fenolických látek jednoduchými metodami pro stanovení celé řady bioaktivních nenutričních látek. Jedná se ale pouze o stanovení *in vitro*, a tak se domnělé antioxidanty nemusí chovat dle předpokladů i *in vivo*. Žádná univerzálně přijímaná zkouška navíc není sama o sobě vhodná k přesné a kvalitativní detekci všech účinků domnělého antioxidantu. Pro stanovení antioxidační aktivity je metody vhodné kombinovat, jejich výsledky však nelze v rámci různých metod mezi sebou srovnávat [54; 55].

2.4.1.1 Metoda TEAC (využívající ABTS)

Metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) je jednoduchou a rychlou metodou pro stanovení celkové antioxidační kapacity v hydrofilním i lipofilním prostředí. Je založena na eliminaci modrozeleného kationradikálu $ABTS^{\bullet+}$ [2,2'-azinobis(3-ethylbenzthyazolin-6-sulfonová kyselina)] s absorpčním maximem v 734 nm (viz obrázek 4). V přítomnosti antioxidantů dochází k eliminaci barvy a snížení absorbance, úměrné množství antioxidantů ve vzorku. Výsledná celková antioxidační aktivita (TAA – Total Antioxidant Activity) se hodnotí podle parametru TEAC, který označuje antioxidační aktivitu vzorku ekvivalentní definovanému množství syntetického derivátu Troloxu (kyselina 6- hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová) [52; 53].

Metoda TEAC je často využívanou pro stanovení látek s antioxidačním potenciálem v potravinách, $ABTS^{\bullet+}$ reaguje s celou řadou jak přírodních, tak syntetických antioxidantů. Nevýhodou tohoto testu je především použití tělu cizího kationradikálu $ABTS^{\bullet+}$, tedy chybí jistota, zda jsou výsledky srovnatelné s těmi v živých soustavách. Problémem může být také samotné zbarvení potraviny, které může interferovat s výsledky [52; 53].



Obrázek 4 Struktura ABTS$^{\bullet+}$ a ABTS [52]

2.4.1.2 Metoda využívající DPPH

Metoda využívající DPPH se, stejně jako metoda využívající ABTS, řadí mezi stanovení založené na eliminaci stabilního chromoforu. Principem je dodání elektronu antioxidantem DPPH$^{\bullet}$ (2,2-di(4-tert-oktylfenyl)-1-pikrylhydrazyl) π-radikálu. DPPH$^{\bullet}$ během této reakce přechází z tmavě fialové barvy na světle žlutou barvu DPPH-H, dochází tedy k odbarvení, pozorovanému na hladině 517 nm. DPPH$^{\bullet}$ je rozpustné v organických rozpouštědlech, proto je tato metoda vhodná pro stanovení v hydrofobním prostředí [52; 55].

2.4.1.3 Metody založené na přenosu vodíkového atomu

Principem HAT (Hydrogen Atom Transfer) metod je eliminace radikálů přenosem volného vodíkového atomu z antioxidantu. Příkladem jsou metody ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity) a TRAP test (Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parametr). Obě metody jsou založeny na termální dekompozici ABAP sloučeniny [2,2' azobis(2-amidinpropan)dihydrochlorid], produkující peroxylové radikály, oxidující luminol. Antioxidanty vychytávají peroxylové ionty a k luminiscenci dochází až po vyčerpání všech antioxidantů v systému. Hodnota antioxidační aktivity se zaznamenává jako poloviční čas potřebný k dosažení nejvyšší hodnoty luminiscence [52; 55].

2.4.1.4 Metody založené na přenosu nepárového elektronu

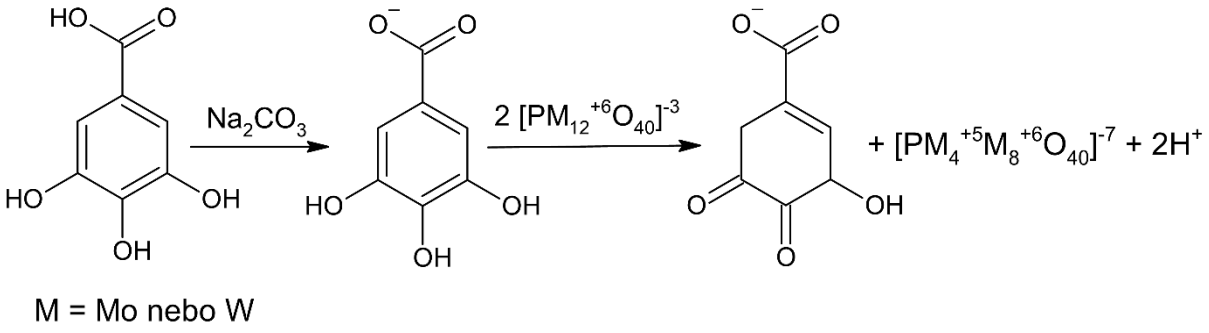
Principem SET (Single Electron Transfer) metod je schopnost antioxidantu přenést elektron s cílem redukovat kovové ionty, karbonylové skupiny a volné radikály. Mezi tyto metody se řadí stanovení s Folin-Ciocalteuovým činidlem, FRAP (Ferric Reduction of Antioxidant Power) a CUPRAC (Cupric Antioxidant Capacity) a jsou založeny na schopnosti redukovat oxidant za současné změny barvy [52].

2.4.2 Stanovení celkového obsahu fenolických látek

Nejvyužívanější metodou pro stanovení celkového obsahu fenolů (TPC – Total Phenolic Content) ve vzorku je spektrofotometrické stanovení s Folin-Ciocalteuovým (F-C) činidlem. Své uplatnění nachází pro kvantitativní stanovení TPC v rostlinných extraktech, potravinách a nápojích. Řadí se mezi metody založené na přenosu nepárového elektronu a hodnoty TPC zpravidla velmi dobře korelují s celkovou antioxidační aktivitou [56].

F-C činidlo se skládá ze směsi kyseliny fosfowolframové a kyseliny fosfomolybdenové. V silně bazickém prostředí dochází k oxidaci fenolických látek, za současné redukce F-C

činidla, projevující se vznikem tmavomodrého zbarvení vlivem vzniku modrých oxidů wolframu a molybdenu (viz obrázek 5). Vzniklé zbarvení, s absorbancí při 765 nm, je úměrné množství celkových fenolů přítomných ve vzorku, vyjadřujících se jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE). Stanovení s F-C činidlem je rychlé, jednoduché a poskytuje reprodukovatelné výsledky. Není ale specifické a kromě fenolů a polyfenolů reaguje i s některými aminokyselinami (tyrosin, tryptofan), redukujícími monosacharidy (glukosa, fruktosa), některými kyselinami a sulfidy [57; 58].



Obrázek 5 Reakce fenolických látek s F-C činidlem [52]

2.4.3 Stanovení celkového obsahu anthokyanů

Pro identifikaci anthokyanů ve vzorku se nejčastěji používá vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC) s UV-VIS detekcí, kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS), případně nukleární magnetická rezonance (NMR). HPLC a hmotnostní spektrometrii je možné využít i pro kvantitativní stanovení obsahu anthokyanů [59].

Pro kvantitativní stanovení monomerních anthokyanů se také často využívá UV-VIS spektrofotometrická pH diferenciální analýza. Jedná se o jednoduchou a levnou metodu, založenou na strukturálních, a tedy i barevných, změnách anthokyanů při různém pH. Při pH 1,0 se anthokyany vyskytují ve formě zbarveného flavyliového kationtu a při pH 4,5 ve formě bezbarvé karbinolové pseudobáze. Stabilní pH pro analýzu zajišťují pufry, konkrétně pufr chloridu draselného (pH 1,0) a octanu sodného (pH 4,5). Barevná změna je měřena jako absorbance při 520 nm a 700 nm. Výsledná koncentrace monomerních anthokyanů je vyjádřena jako ekvivalent kyanidin-3-glukosidu [60].

2.5 Metody stanovení vonných a chuťových látek

Součástí práce bylo stanovení profilu těkavých aromaticky aktivních látek (AAL) cukrovinek, brusnice borůvky a extraktu z brusnice borůvky.

2.5.1 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME – Solid Phase Microextraction) je preparativní sorpčně/desorpční technika využívaná pro extrakci a izolaci nejčastěji těkavých aromaticky aktivních látek. Dosahuje nízké detekční limity a je snadno automatizovatelná pro spojení

s plynovou a kapalinovou chromatografií. Extrakce látek probíhá bez použití rozpouštědla a není kvantitativní, ale dochází k ní ustanovením sorpční rovnováhy [61; 62].

Základní instrumentační složkou SPME je křemenné vlákno pokryté sorpční vrstvou polymeru polydimethylsiloxanu (PDMS), sloužícího jako stacionární fáze. Vlákno je ukryté v ocelové kapiláře, která zastává ochrannou funkci a zprostředkovává penetraci septa vialky obsahující vzorek. Metoda SPME má tři základní extrakční modely, metoda přímé extrakce (DI-SPME – Direct Immersion SPME), využívající extrakce přímo z kapalného vzorku; metoda headspace (HS-SPME), využívající extrakce z prostoru plynné fáze nad vzorkem a méně často používaná metoda membránové extrakce [61; 62].

2.5.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Plynová chromatografie (GC – Gas Chromatography) je analytická metoda stanovení látek v plynném skupenství. Její časté použití pro stanovení AAL vychází z faktu, že většina těchto látek je těkavých. Jedná se o separační metodu, založenou na rovnovážném dělení analytu mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze, mobilní (zastoupenou nosným plynem) a stacionární (umístěnou v chromatografické koloně). Látky jsou unášeny nosným plynem a separovány dle různé afinity ke stacionární fázi. Z kolony přechází na detektor, kde jsou fyzikálně chemické vlastnosti analytu převedeny na měřitelnou podobu. Nejčastěji využívanými detektory jsou hmotnostní spektrometr (MS), plamenově ionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD) a tepelně vodivostní detektor (TCD) [63; 64].

Hmotnostní spektrometrie (MS – Mass Spectrometry) je založena na převedení vzorku na ionty a separaci vzniklých iontů dle jejich poměru hmotnosti a náboje *m/z*. MS poskytuje informace o molekulové hmotnosti a struktuře stanovovaných látek. Základní instrumentace MS se skládá ze tří částí – iontového zdroje, jehož účelem je převedení procházejícího analytu na ionty (dle energie dodávané analytu dělíme ionizační techniky na měkké a tvrdé), samotného analyzátoru, uvnitř kterého ve vakuovém prostředí dochází k separaci iontů na základě poměru *m/z* a nakonec detektoru, který zaznamenává dopadající ionty a převádí je na detekovatelný, nejčastěji elektrický, signál [64]. Mezi nejčastěji využívané analyzátory patří kvadrupólový analyzátor, analyzátor doby letu (TOF) nebo sektorové analyzátory a mezi nejčastěji využívané detektory elektronový násobič [65].

Tandemová technika plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS) spojuje přednosti obou metod, separační schopnost GC a identifikační schopnost MS. Metoda je vhodná jak pro kvalitativní, tak pro kvantitativní stanovení zastoupení AAL ve vzorku s co největší přesností. Identifikované látky jsou charakterizovány retenčním časem GC a hmotnostním spektrem MS [66].

2.6 Senzorická analýza

Senzorická analýza tvoří nedílnou část celkového hodnocení jakosti potravin a jejím cílem je zjistit, jaké senzorické parametry hrají významnou roli při hodnocení potraviny spotřebitelem. Využívá a kombinuje principy vycházející z potravinářství, fyziologie, psychologie a statistiky [67].

Senzorickou analýzou se rozumí komplexní hodnocení organoleptických vlastností potravin výhradně lidskými smysly. Chuťový smysl je využíván pro posouzení základních chuťových vlastností, ale i aromatických látek a textury; zrakový smysl je využíván pro posouzení barvy, tvaru a rozměrů potraviny a čichový smysl slouží pro posouzení přítomnosti aromatických látek. Méně často hodnocenými, ale také důležitými vlastnostmi jsou ty posuzované sluchovým a hmatovým smyslem. Kombinací vjemů získaných z chuťových receptorů dutiny ústní, čichových receptorů dutiny nosní a hmatových receptorů dutiny ústní se získá „flavour“, komplexní chuťový vjem [68; 69].

2.6.1 Podmínky senzorické analýzy

Senzorická analýza probíhá za takových podmínek, aby bylo zajištěno objektivní, přesné a reprodukovatelné měření [68]. Faktory ovlivňující smyslové vnímání, silně ovlivňující výsledky senzorické analýzy mohou být buď objektivní, nebo subjektivní. Mezi subjektivní činitele se řadí podmínky, za kterých jsou hodnotitelům předkládány vzorky, a jsou určeny normou ČSN EN ISO 8589 – Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště (viz tabulka 9), které je nutné během senzorického hodnocení dodržet. Subjektivním činitelem senzorického hodnocení je samotný hodnotitel, na jehož zkušenostech a schopnosti hodnotit závisí získané výsledky [70].

Tabulka 9 Optimální podmínky pro senzorickou analýzu [70]

Optimalizovaný faktor	Optimální podmínky pro senzorickou analýzu
Teplota	Stálá teplota 18–23 °C, nejlépe klimatizace
Relativní vlhkost	Stálá relativní vlhkost 75 %, nejlépe klimatizace
Hladina zvuku	Do 40 dB, izolace dveří a oken (zvukotěsná místnost)
Pach	Bez pachu, zařízení úpravy vzduchu s filtrem s aktivním uhlím, nátěry neabsorbující pachy
Barva stěn a zařízení	Neutrální – matově bílá nebo světle šedá; bez výzdoby
Osvětlení	Jednotné, netvořící stíny, regulovatelné, s korelovanou barevnou teplotou 6500 K
Kóje	Minimální počet 3, minimální plocha 1 m^2; samostatné a oddělené kóje, minimální kontakt mezi hodnotiteli

Vzorky pro senzorickou analýzu musí být předkládány v čistých a senzoricky neurálních nádobách, v dostatečném množství, při předepsané teplotě a za obvyklých způsobů podávání konkrétních potravin. U vzorků také musí být zachována anonymita, zabezpečená kódovaným označením jednotlivých vzorků, čímž se předejde ovlivnění hodnotitele [71].

Správný výběr hodnotitelů účastnících se senzorické analýzy je klíčový pro správnost a účel získaných výsledků. Z fyziologického hlediska, by hodnotitelé neměli trpět žádnou trvalou ani

krátkodobou vadou některého ze smyslových receptorů a neměli by své smysly vystavit takovým faktorům, které by mohly snížit jejich citlivost, např. konzumace silně kořeněných jídel, vykouření cigarety nebo konzumace alkoholických nápojů. Z psychických vlivů by hodnotitelé měli splňovat alespoň základní požadavky – schopnost udržet pozornost, pečlivost při plnění zadaných úkolů, schopnost vyjádřit vnímané poznatky a existence bohatých asociací [68].

2.6.2 Metody senzorické analýzy

Pro získání správných výsledků je nezbytné použití vhodné metody a závisí především na zkoumaných vlastnostech předkládaných vzorků a kvalitě hodnotitelů. Metody senzorické analýzy je možné rozdělit do dvou základních kategorií, metody rozlišovací a metody deskriptivní. Cílem rozlišovacích metod je ukázat, zda je mezi hodnocenými vzorky rozdíl. Deskriptivní metody mají blíže chemickým metodám, jsou komplexní a jejich cílem je určit celkový profil výrobků, popsat je nebo určit přítomnost či intenzitu určité vlastnosti [67; 68].

V rámci této práce byly pro hodnocení cukrovinek použity deskriptivní metody, stejně jako ve většině níže uvedených publikací.

2.6.2.1 Deskriptivní metody

Cílem deskriptivních (popisných) metod je komplexní kvalitativní a kvantitativní popis sledovaných senzorických vlastností vzorku. Zahrnují jednoduché popisné zkoušky, senzorický profil a ostatní popisné metody [71].

Stanovení senzorického profilu (ČSN EN ISO 13299) zahrnuje komplexní charakterizaci vzorku z hlediska intenzity dílčích vjemů, neboli deskriptorů. Senzorický profil je pak popis senzorických vlastností v pořadí jejich vnímání s přiřazenými hodnotami intenzit pro každou vlastnost [68].

2.6.2.2 Metody s použitím stupnic

Metody za použití stupnic (ČSN ISO 4121) jsou asi nejčastějšími metodami pro senzorické hodnocení potravin. Používají se pro vyjádření velikosti rozdílu mezi hodnocenými vzorky. Základními stupnicemi jsou stupnice ordinální, neboli pořadové; stupnice kategorové; intervalové a poměrové, neboli magnitudové. Stupnice dále můžeme dělit na intenzitní, sloužící k posouzení intenzity dané vlastnosti a hedonické, sloužící k posouzení stupně přijatelnosti [71].

2.6.3 Senzorická analýza nečokoládových cukrovinek

Senzorické hodnocení nečokoládových cukrovinek se zaměřuje především na hodnocení celkového vzhledu, barvy, chutě, vůně a řady vlastností spojených s texturou vzorku, jako je konzistence (přítomnost krystalů), lepivost a charakter povrchu. Důležitou vlastností je také celkový dojem. Mezi nejčastější pozorované senzorické vady cukrovinek patří atypická barva, cizí chutě a vůně, příliš měkká nebo tvrdá konzistence, lepivost, přítomnost krystalů

v cukrovinkách bez vykrystalizované sacharosy nebo omírání, tedy rekrystalizace sacharosy na povrchu cukrovinky [72].

Rivero a kol. [73] studovali vliv náhradních sladidel (maltodextrin, isomalt, maltitol) na senzorickou přijatelnost želatinových želé cukrovinek z pomerančové a malinové šťávy. Celková přijatelnost byla hodnocena hodnotiteli z řad dětí i dospělých. Podobnou studii provedli i Cano-Lamdrid a kol. [74], do želé cukrovinek přidali šťávu z granátového jablka (*Mollar de Elche*) a pro snížení trpké chuti přidali jablečné pyré. U vzorků byly provedeny konzumentské testy, založené na hodnocení celkové přijatelnosti, chuti, barvy, vzhledu a textury.

Ze senzorického hlediska zajímavými se staly cukrovinky upravené lyofilizací neboli mrazovým sušením. Archaina a kol. [75] ve své studii připravili lyofilizované cukrovinky z černého rybízu a bílého jogurtu. Ty byly podrobeny senzorické analýze se zaměřením na změnu textury vzorků v průběhu skladování. Stejný kolektiv tuto studii obnovil a provedl důkladnější senzorické testování textury, pro své testování vybrali školené hodnotitele [76].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie

3.1.1 Chemikálie

Ethanol 96% (PENTA); kyselina gallová (PENTA); Folin-Ciocalteuovo činidlo (VWR Chemicals, Francie); uhličitan sodný p.a. bezvodý (Centralchem); ABTS 98%, (diamonná sůl 2,2′-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazolin)-6-sulfonové kyseliny) (Sigma-Aldrich, USA); peroxodisíran draselný (Lachema); trolox 97% ((±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) (Sigma-Aldrich, Rusko); octan sodný p.a. bezvodý (Lach-Ner); chlorid draselný (Lach-Ner); kyselina chlorovodíková 35% (PENTA).

3.1.2 Plyny

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

3.1.3 Přístroje

Plynový chromatograf TraceTM 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA); hmotnostní detektor ISQTM LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA); knihovna spekter NIST/EPA/NIH, verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA); spektrofotometr (Helios Gamma & Delta Spectronic Unicam, USA); spektrofotometr Specord 50 plus (Analytik Jena, Německo); pH tester (HANNA instruments, Rhode Island, USA); vodní lázeň Julabo TW12 (Německo); předvážky EK-600i (A&D Instruments LTD., Japonsko); analytické digitální váhy (HELAGO, GR-202-EC, Itálie).

3.1.4 Pracovní pomůcky

SPME-vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA); mikropipety BiohitProline (10 µl – 1 ml), špičky; vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem; běžné laboratorní sklo a pomůcky; nádobí a pomůcky pro výrobu vzorků a senzorickou analýzu.

3.1.5 Suroviny pro výrobu cukrovinek

Glukosový sirup (Fractal); cukr krupice; želatina na ztužení krémů, jemně mletá (Dr. Oetker); kyselina citrónová monohydrát (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika); plody brusnice borůvky; extrakt plodů brusnice borůvky.

3.2 Analyzované vzorky

V rámci experimentální části diplomové práce byly analyzovány modelové vzorky želé cukrovinek s přídavkem extraktu brusnice borůvky, plodů brusnice borůvky, komerční borůvkové želé cukrovinky a standardní želé cukrovinky (viz obrázek 6).

Vzorky byly vyrobeny za laboratorních podmínek na FCH VUT.

Výroba extraktu borůvky byla optimalizována v rámci této práce (viz kapitola 4.1.2.1) na základě celkového obsahu fenolických látek. Extrakt byl získán macerací rozmělněných plodů borůvek o navážce 1000 g/l vody při teplotě 50 °C po dobu 2 hodin.

Borůvky pro tuto práci byly nasbírány na počátku července v oblasti Krkonošského podhůří (nadmořská výška 415 m n. m.) v jehličnatém lese na ploše s radiem přibližně 250 m. Plody byly ihned po sběru zavakuovány a udržovány při teplotě –18 °C až do analýzy.

Pro potřeby stanovení těkavých látek byly borůvky rozmačkány v hmoždíři, pro spektrofotometrické stanovení bioaktivních látek (celkové fenolické látky, antioxidační aktivita, celkové anthokyany) byla použita vylisovaná borůvková šťáva.

Základem výroby cukrovinek byl upravený technologický postup pro výrobu želatinových cukrovinek, z diplomové práce Rychetského [77]. Plody brusnice borůvky se do cukrovinek přidávaly ve formě extraktu nebo rozmačkaných plodů a přidané množství bylo optimalizováno na základě senzorického hodnocení (viz kapitoly 4.2.1 a 4.2.2).

Byly vyrobeny tři sady vzorků. Sada A se věnovala optimalizaci přídavku borůvkového extraktu do cukrovinek (přídavek 15 %, 25 % a 35 % hmoty cukrovinek), sada B optimalizaci přídavku rozmělněných borůvek do cukrovinek (přídavek 15 %, 30 % a 45 % hmoty cukrovinek). Obě sady obsahovaly rovněž standard pro srovnání senzorických vlastností. V následné senzorické analýze, sada C, byly srovnány nejlépe hodnocené vzorky prvních dvou sad se standardem a komerčním vzorkem borůvkových cukrovinek (viz tabulka 10).

Tabulka 10 Označení analyzovaných vzorků cukrovinek

První série – sada A – přídavek rozmělněných borůvek do cukrovinek	
Přídavek extraktu [% hm.]	**Označení vzorku**
0	STD
15	EXT15
25	EXT25
35	EXT35
První série – sada B – přídavek extraktu borůvek do cukrovinek	
Přídavek borůvek [% hm.]	**Označení vzorku**
0	STD
15	BOR15
30	BOR30
45	BOR45

Tabulka 10 Označení analyzovaných vzorků cukrovinek – pokračování

Druhá série – sada C – optimalizované vzorky a komerční vzorek cukrovinek	
Vzorek	**Označení vzorku**
Standard	STD
Optimální přídavek borůvek	BOR
Optimální přídavek extraktu	EXT
Komerční vzorek	KOM

Vzorky byly po výrobě uchovávány v uzavřených nádobách, v lednici a bez přístupu světla, aby se zamezilo nežádoucím senzorickým změnám a změnám v chemických vlastnostech. Pro potřeby senzorické analýzy byly cukrovinky podávány bez úpravy, pro chemické analýzy byly vzorky nakrájeny na malé kousky (pro stanovení na GC-MS) nebo rozpuštěny v roztoku ethanolu v poměru 1:4 (pro stanovení celkového obsahu fenolických látek, antioxidační aktivity a celkového obsahu anthokyanů).

Pro výrobu cukrovinek byly použity tyto suroviny: glukosový sirup, cukr krystal, želatina, voda, kyselina citronová, extrakt plodů brusnice borůvky, plody brusnice borůvky. Komerční cukrovinky měly složení (uvedeno na obalu): glukosový sirup, fruktosa, borůvková šťáva 23 %, zahušťovadlo: vepřová želatina, kyseliny: kyselina citronová, konzervant: sorban draselný, leštící látky: karnaubský vosk.

Obrázek 6 Vzorky cukrovinek – zleva: standard (STD), s optimalizovaným přídavkem extraktu (EXT)

3.3 Použité metody a experimentální postupy

3.3.1 Metoda HS-SPME-GC-MS

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

Borůvky pro analýzu byly rozmačkány v hmoždíři, vzorky cukrovinek byly nakrájeny na drobné kousky (o velikosti přibližně 5 mm) a extrakt se analyzoval v nezměněné podobě. Do vialek byly naváženy 3 g jednotlivých vzorků tak, aby nedošlo ke kontaktu vzorku s SPME vláknem (viz obrázek 7).

Obrázek 7 Vzorky cukrovinek připravené na HS-SPME-GC-MS analýzu

3.3.1.1 Podmínky SPME extrakce

Doba inkubace (temperování): 10 minut; doba extrakce 20 minut; teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru): 40 °C; agitátor zapnutý: 5 sekund, vypnutý: 60 sekund; hloubka ponoření vlákna do vialky: 20 mm; množství vzorku: 3 g.

3.3.1.2 Podmínky GC-MS analýzy

Kapilární kolona ZB-Wax (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm); teplota injektoru (desorpce) 240 °C; doba desorpce: 20 minut; dávkování: splitless, ventil uzavřen: 10 minut; hloubka ponoření vlákna do injektoru: 40 mm; nosný plyn: helium, průtok 1 ml · min^{-1}.

Teplotní program: 40 °C s výdrží 1 minutu, vzestupný gradient 5 °C · min^{-1} do 200 °C s výdrží 12 minut, celková doba analýzy: 45 minut.

Hmotnostní detektor v modu EI, energie ionizačních elektronů 70 eV teplota iontového zdroje: 200 °C, skenovací rozsah m/z: 30-370 amu, rychlost skenování: 0,2 sekund.

3.3.2 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu fenolických látek

Celkový obsah fenolických látek byl stanoven spektrofotometrickou metodou s použitím Folin-Ciocalteauova činidla (viz kapitola 2.4.2).

Pro účely měření byl připravený pracovní roztok F-C činidla naředěný destilovanou vodou v poměru 1:9 a roztok Na_2CO_3 připravený rozpuštěním 7,5 g Na_2CO_3 v 95 ml destilované vody.

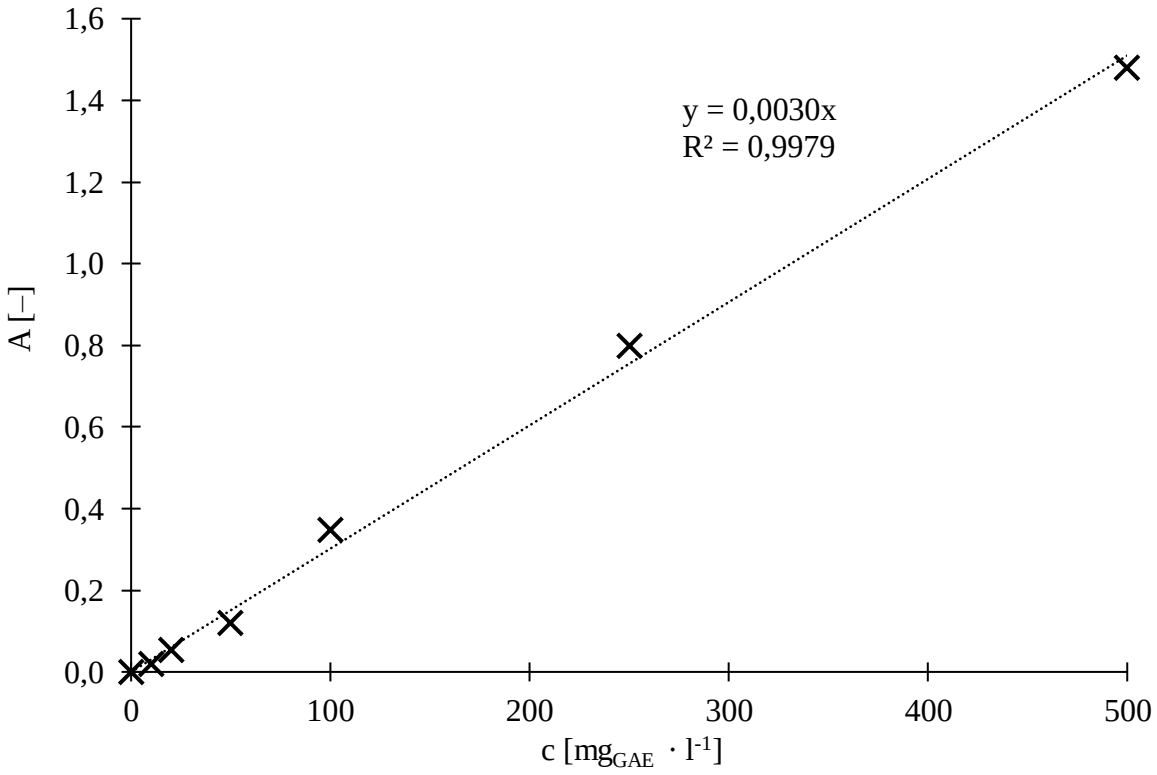
Do zkumavek bylo přidáno 100 μl vzorku, 1 ml destilované vody a 1 ml roztoku F-C činidla. Obsah zkumavky byl promíchán a ponechán 5 minut ve tmě. Následně byl do zkumavky přidán 1 ml roztoku Na_2CO_3, roztok byl opět promíchán a ponechán reagovat 30 minut ve tmě. Měření

bylo prováděno při λ = 765 nm, proti slepému vzorku, připravenému paralelně se vzorky, který místo 100 µl stanovovaného vzorku obsahoval stejné množství destilované vody.

Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE) – v mg na g nebo ml vzorku.

3.3.2.1 Příprava kalibrační křivky kyseliny gallové

Pro sestrojení kalibrační křivky byly připraveny kalibrační roztoky kyseliny gallové o koncentracích 10–500 mg · l^{-1} (viz obrázek 8). Měření absorbance bylo prováděno při λ = 765 nm proti slepému vzorku.



Obrázek 8 Kalibrační křivka kyseliny gallové

3.3.3 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometrickou metodou TEAC (viz kapitola 2.4.1.1).

Pro účely měření byl připraven roztok $ABTS^{\bullet+}$ o koncentraci 7 mol·l^{-1} rozpuštěním ABTS ve vodě, k němuž bylo přidáno 2,45 mmol·l^{-1} $K_2S_2O_8$. Připravený roztok byl ponechán v temnu v lednici po dobu alespoň 12 hodin.

Před měřením byl roztok $ABTS^{\bullet+}$ naředěn 60% roztokem ethanolu na absorbanci A = 0,7 ± 0,02. Vzorky byly měřeny při vlnové délce λ = 734 nm proti 60% roztoku ethanolu. Do zúžené kyvety byl napipetován 1 ml roztoku $ABTS^{\bullet+}$ a 10 µl destilované vody a byla změřena absorbance (A_0).

Do další kyvety bylo k 1 ml roztoku $ABTS^{\bullet+}$ přidáno 10 µl vzorku a byla sledována změna absorbance v čase 10 minut (A_1). Během měření byly všechny vzorky a roztoky uchovávány v temnu.

Výsledná absorbance byla vypočtena ze vzorce (1).

$$A = A_0 - A_1 \tag{1}$$

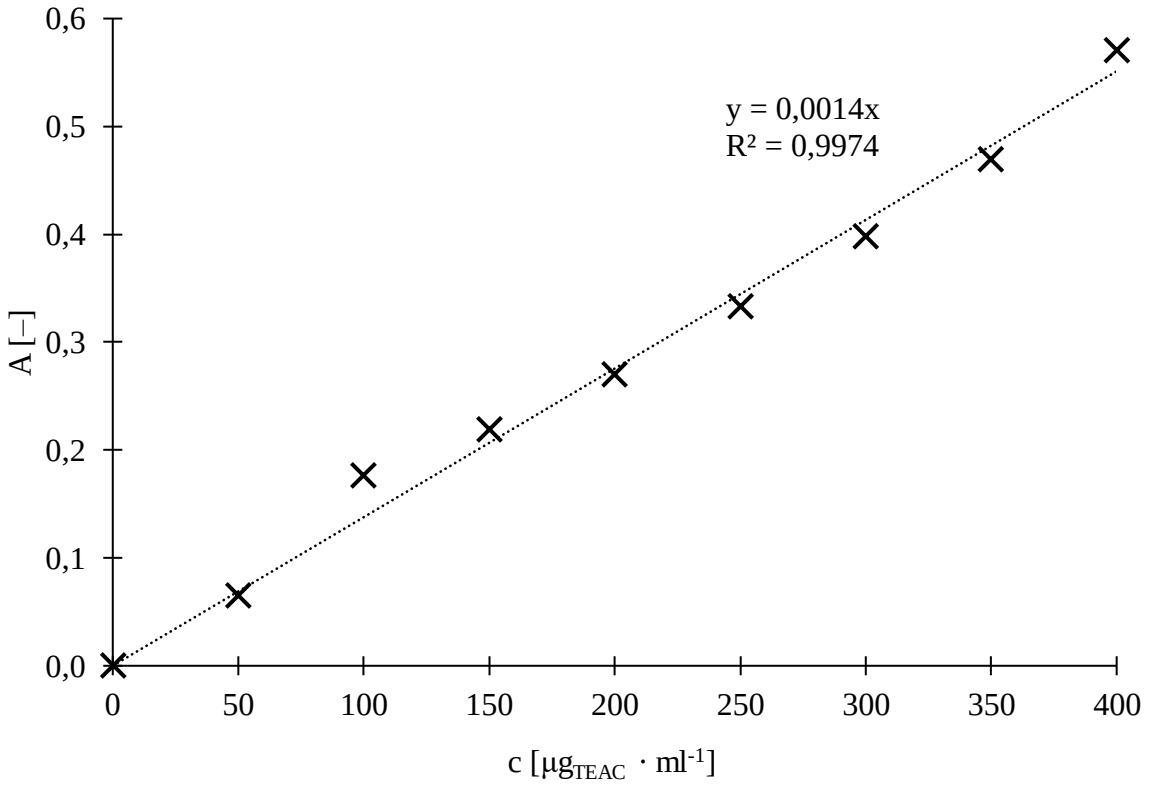
Procenta zhášení radikálu byla vypočtena ze vzorce (2)

$$\text{zhášení radikálu [\%]} = 100 \cdot \frac{A_0 - A_1}{A_0} \tag{2}$$

3.3.3.1 Příprava kalibrační křivky Troloxu

Kalibrační závislost (viz obrázek 9) byla sestrojena zředěním standardního zásobního roztoku Troloxu 60% ethanolem na koncentrace v rozmezí 50–400 µg · ml^{-1} a měřením absorbance těchto roztoků při λ = 734 nm proti 60% roztoku ethanolu.

Výsledky byly vyjádřeny jako parametr TEAC, tj. koncentrace standardu Troloxu odpovídající antioxidační aktivitě vzorku v µg · ml^{-1}.



Obrázek 9 Kalibrační křivka Troloxu

3.3.4 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu anthokyanů

3.3.4.1 Příprava pufrovacích roztoků

Pufr o pH 1 a koncentraci 0,025 mol · l^{-1} chloridu draselného byl připraven rozpuštěním 0,372 g KCl ve 190 ml destilované vody. pH roztoku bylo pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové upraveno na hodnotu 1. Roztok byl převeden do 200 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou. Pufr o pH 4,5 a koncentraci 0,4 mol · l^{-1} octanu vápenatého byl připraven obdobným způsobem. Rozpuštěním 10,886 g $Ca(CH_3COO)_2$ ve 190 ml destilované vody, upravením pH na hodnotu 4,5 a doplněním do objemu 200 ml.

3.3.4.2 Vlastní stanovení obsahu celkových anthokyanů

Do zkumavek bylo napipetováno 0,5 ml vzorku a 2,5 ml tlumivého roztoku chloridu draselného, do dalších zkumavek bylo napipetováno 0,5 ml vzorku a 2,5 ml tlumivého roztoku octanu vápenatého. Roztoky byly promíchány a byla změřena jejich absorbance při vlnových délkách λ = 510 nm a λ = 700 nm.

Celková absorbance byla vypočtena ze vzorce (3)

$$A = (A_{510\ \mathrm{nm}} - A_{700\ \mathrm{nm}})_{\mathrm{pH\ 1}} - (A_{510\ \mathrm{nm}} - A_{700\ \mathrm{nm}})_{\mathrm{pH\ 4,5}} \quad (3)$$

Výsledná koncentrace byla vyjádřena jako ekvivalent kyanidin-3-glukosidu a vypočtena ze vzorce (4),

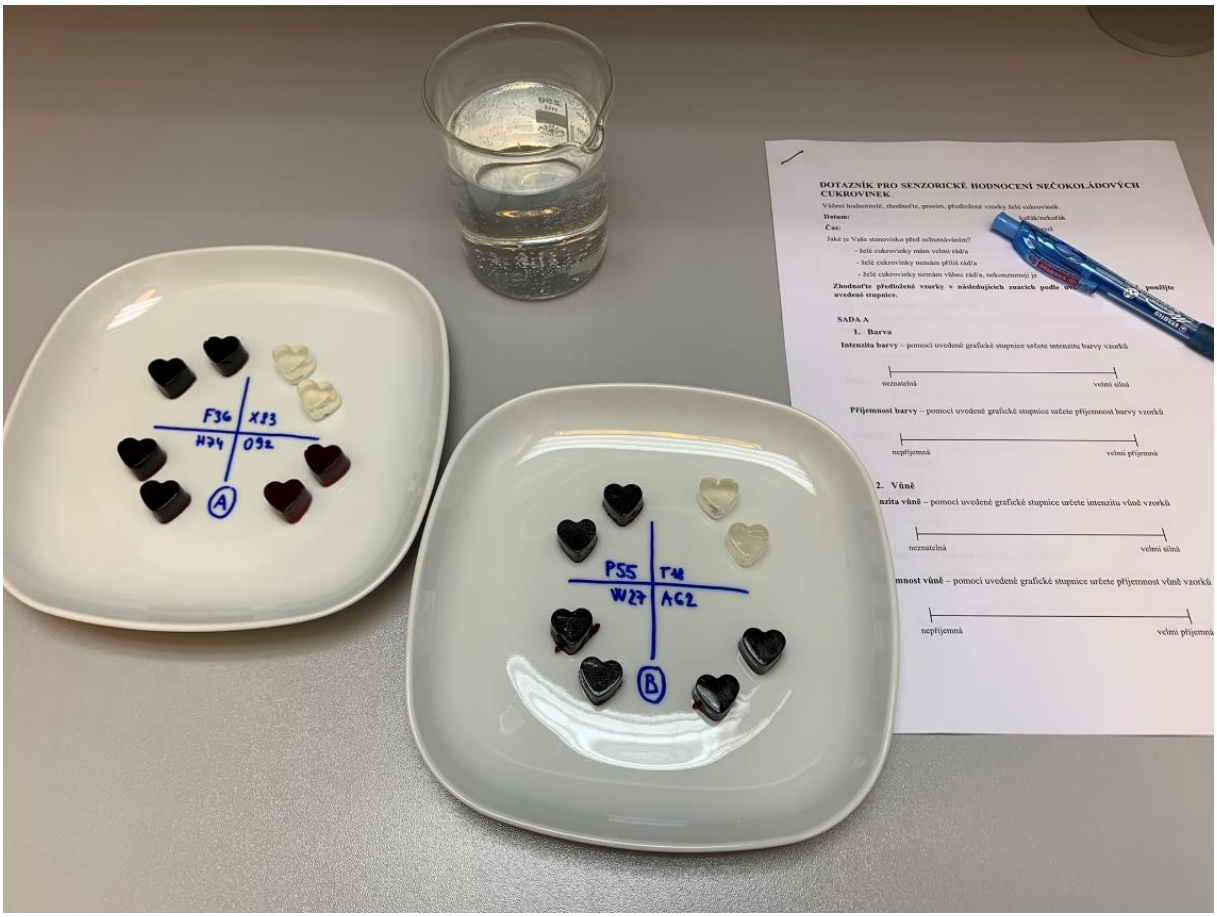
$$c_{MP} = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 1000}{\varepsilon \cdot l} \quad (4)$$

kde c_{MP} je výsledná koncentrace monomerního pigmentu [mg · l^{-1}], A je celková absorbance, F – faktor ředění, M – molekulová hmotnost pigmentu kyanidin-3-glukosidu [449,2 g · mol^{-1}], l – délka kyvety [cm] a ε – molární absorpční koeficient pro kyanidin-3-glukosid [26 900 l · mol^{-1} cm^{-1}].

3.3.5 Senzorická analýza

Senzorická analýza proběhla dvakrát, cílem první senzorické analýzy byla optimalizace přídavku extraktu borůvek a rozmělněných borůvek do cukrovinek. Cílem druhé senzorické analýzy bylo srovnání optimalizovaných cukrovinek mezi sebou a s obdobným komerčním vzorkem.

Vzorky pro senzorické analýzy byly nachystány na talířky, označeny náhodně zvolenými třímístnými kódy a předloženy k hodnocení (viz obrázek 10). Jako neutralizátor chuti byla hodnotitelům k dispozici voda. Panel hodnotitelů se skládal ze studentů Fakulty chemické VUT. Hodnocení se zúčastnilo vždy 25 hodnotitelů.



Obrázek 10 Vzorky nachystané pro senzorickou analýzu

Senzorická analýza byla zaměřena na hodnocení chuti, vůně, barvy a textury. Vzorky byly hodnoceny pomocí nestrukturovaných grafických stupnic (10 cm). Byla hodnocena tuhost (velmi měkká → velmi tuhá), intenzita barvy, vůně a chuti (neznatelná → velmi silná); příjemnost textury, barvy, vůně a chuti (nepříjemná → velmi příjemná). Součástí hodnocení byl také profilový test vybraných chutí, konkrétně sladká, kyselá, ovocná a jiná, dle doplnění hodnotitelů, (neznatelná → velmi silná). Na závěr byly vzorky hodnoceny dle celkové přijatelnosti (nepřijatelný → velmi přijatelný).

Použité senzorické dotazníky jsou uvedeny v přílohách 1 a 2.

3.4 Statistické vyhodnocení výsledků

Data byla zpracována a vyhodnocena pomocí programu MS Excel 2020 a Statistica 14. Všechny analýzy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky senzorické analýzy byly graficky znázorněny jako průměr ± směrodatná odchylka (v případě normálně distribuovaných dat) nebo medián ± 1,5 násobek interkvartilového rozptylu (v případě nenormálně distribuovaných dat) všech hodnotitelů (n = 25). Hodnoty odečtené z grafických stupnic jsou uváděny v cm. Pro statistické hodnocení byla použita parametrická analýza rozptylu ANOVA (pro normální distribuci dat) a neparametrická Kruskal-Wallis ANOVA (nenormální distribuce dat) s využitím dalších statistických testů

(Shapiro-Wilkův test normality, Grubssův test na odlehlé hodnoty, Leveneho test na homogenitu rozptylu, Tuckeyho post hoc tes, Dunnův post hoc test). Pro korelační analýzu byly použity Pearsonův korelační test (data bez odlehlých hodnot) a Spearmanův neparamterický korelační test (data s odlehlými hodnotami).

Stanovené AAL ve vzorcích byly identifikovány pomocí programu Xcalibur 2.2 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) na základě srovnání s dostupnými knihovnami spekter. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 3) a vyhodnoceny semikvantitativně (jako relativní %), srovnáním zastoupení jednotlivých skupin identifikovaných látek pomocí ploch příslušných píků na chromatogramu.

Celkový obsah fenolických látek, antioxidační aktivita a celkový obsah anthokyanů jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 3) a graficky znázorněny.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce navazuje na předchozí diplomovou práci zabývající se optimalizací postupu výroby želé cukrovinek [77].

Jejím záměrem byla výroba a charakterizace želé cukrovinek s přídavkem brusnice borůvky, respektive z ní získaného extraktu. Celý proces byl optimalizován, příprava extraktu na základě obsahu celkových fenolických látek, výroba cukrovinek byla založena na senzorickém hodnocení. Cílem bylo zvýšit senzorickou kvalitu cukrovinek – vzhledem k vysokému obsahu anthokyanů v borůvkách lze očekávat atraktivní modrofialovou barvu, ale i zvýšení jejich nutriční hodnoty a obsahu bioaktivních látek.

Výroba želé cukrovinek vycházela ze standardního technologického postupu (viz kapitola 4.1.1), postup přípravy extraktu je uveden v kapitole 4.1.2.

Vyrobené vzorky cukrovinek, extrakt a borůvky (případně lisovaná borůvková šťáva) byly analyzovány z hlediska obsahu těkavých látek metodou HS-SPME-GC-MS (viz kapitola 3.3.1), celkového obsahu fenolických látek (viz kapitola 3.3.2), antioxidační aktivity (viz kapitola 3.3.3) a celkového obsahu anthokyanů (viz kapitola 3.3.4). Vzorky cukrovinek byly hodnoceny i pomocí senzorické analýzy (viz kapitola 3.3.5).

4.1 Výrobní postup želé cukrovinek

4.1.1 Příprava a postup výroby želé cukrovinek

Optimalizací postupu přípravy želé cukrovinek se věnovala diplomová práce Matěje Rychetského, postup přípravy byl převzat z této práce [77].

Základem výroby byla příprava cukrosirupového roztoku složeného z 50% roztoku sacharosy a glukosového sirupu v poměru 55:45. Po záhřevu na teplotu 65 °C do něj byla přimíchána nabobtnalá želatina, v celkovém obsahu 7,5 % hm. Ta se připravila paralelně rozmícháním práškové želatiny ve studené vodě v poměru 1:3. Při zchladnutí na teplotu 50 °C byla ke směsi přidána kyselina citronová, v celkovém obsahu 2 % hm. Hmota byla následně nalita do silikonových forem, nechána vychladnout při pokojové teplotě a následně byla ponechána v lednici po dobu alespoň 24 hodin. Připravené cukrovinky byly až do jejich konzumace (v rámci senzorického hodnocení) skladovány v lednici, uzavřené v plastové nádobě.

Pro výrobu cukrovinek s přídavkem extraktu byla v receptuře voda, případně její část, nahrazena borůvkovým extraktem, dle procenta extraktu (viz kapitola 4.2.1).

Pro výrobu cukrovinek s přídavkem borůvek byla v receptuře část cukrosirupového roztoku nahrazena rozmačkanými plody borůvek, dle procenta borůvek (viz kapitola 4.2.2).

4.1.2 Příprava a postup výroby extraktu borůvky

Borůvkový extrakt byl připraven metodou macerace, což je jednoduchá, ale zároveň účinná a levná metoda extrakce. K přípravě extraktu byly použity zmrazené plody borůvek, které byly rozmělněny v hmoždíři. Následně byly smíchány s vodou dle navážky a umístěny do vodní

lázně. Po uplynutí požadované doby extrakce byla směs přefiltrována přes filtrační papír a výsledný extrakt byl aplikován do cukrovinek.

Optimalizace extraktu byla provedena na základě celkového obsahu fenolických látek, s cílem maximálního zisku těchto bioaktivních sloučenin. Jako extrakční činidlo byla zvolena voda a v rámci optimalizace byly měněny následující parametry – navážka ($g \cdot l^{-1}$), extrakční teplota (°C) a doba extrakce (min). Extrakt s nejvyšším obsahem fenolických látek byl připraven z navážky 1000 $g \cdot l^{-1}$ vody, při teplotě 50 °C a extrakci po dobu 2 hodin (viz obrázek 11).

Obrázek 11 Připravený optimalizovaný extrakt brusnice borůvky

4.1.2.1 Optimalizace výroby extraktu borůvky

V první fázi byla optimalizována navážka borůvek. Byly použity navážky v rozmezí 50–1000 $g \cdot l^{-1}$, teplota extrakce 20 °C a doba extrakce 60 minut.

Dle předpokladu, s rostoucí navážkou přímo rostl i celkový obsah fenolických látek (viz tabulka 11), (Pearsonův korelační test, r = 0,9887). Mezi vzorky byly zaznamenány signifikantní rozdíly (ANOVA, p = 0,0000; p<α). Jako optimální byla zvolena nejvyšší navážka, 1000 $g \cdot l^{-1}$, při které bylo vyextrahováno největší množství fenolických látek.

Tabulka 11 Vliv navážky na celkový obsah fenolických látek v extraktu

Navážka [$g \cdot l^{-1}$]	**Teplota [°C]**	**Čas [min]**	**Aø [-]**	**TPC [$\mu g_{GAE} \cdot ml^{-1}$]***
50	20	60	0,113 ± 0,004	185 ± 6^{a}
100	20	60	0,233 ± 0,005	382 ± 8^{b}
200	20	60	0,398 ± 0,005	652 ± 8^{c}
300	20	60	0,531 ± 0,007	870 ± 12^{d}

Tabulka 11 Vliv navážky na celkový obsah fenolických látek v extraktu - pokračování

Navážka [g · l^{-1}]	Teplota [°C]	Čas [min]	Aø [-]	TPC [µg$_{GAE}$ · ml^{-1}]*
500	20	60	0,683 ± 0,009	1119 ± 15^{e}
750	20	60	0,911 ± 0,006	1493 ± 10^{f}
1000	20	60	1,131 ± 0,007	1854 ± 11^{g}

** Data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem; (Aø – průměrná hodnota absorbance, TPC – celkový obsah fenolických látek)*

V druhé fázi byla optimalizována extrakční teplota. Byly použity teploty v rozmezí 2,5–80 °C, navážka 200 g · l^{-1} a doba extrakce 60 minut.

S rostoucí teplotou rostl i celkový obsah fenolických látek (Pearsonův korelační test, r = 0,9327), a to až do teploty 50 °C (viz tabulka 12). To mohlo být způsobeno uvolňováním fenolických látek z glykosidů do formy volných aglykonů, na které je stanovení Folin-Ciocalteuovým činidlem citlivější. Mezi vzorky byly zaznamenány signifikantní rozdíly (ANOVA, p = 0,0000; p<α). Avšak mezi obsahy fenolických látek při teplotách 50 °C, 65 °C a 80 °C nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl (ANOVA, p = 0,841; p>α). Jako optimální byla zvolena nejnižší teplota, při které se podařilo dosáhnout srovnatelného obsahu fenolických látek, tedy 50 °C.

Tabulka 12 Vliv extrakční teploty na celkový obsah fenolických látek v extraktu

Navážka [g · l^{-1}]	Teplota [°C]	Čas [min]	Aø [-]	TPC [µg$_{GAE}$ · ml^{-1}]*
200	2,5	60	0,386 ± 0,006	631 ± 10^{a}
200	20	60	0,402 ± 0,003	659 ± 5^{a}
200	30	60	0,456 ± 0,004	747 ± 6^{b}
200	40	60	0,542 ± 0,011	888 ± 18^{c}
200	50	60	0,688 ± 0,012	1127 ± 20^{d}
200	65	60	0,703 ± 0,013	1152 ± 22^{d}
200	80	60	0,701 ± 0,010	1149 ± 16^{d}

** Data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem; (Aø – průměrná hodnota absorbance, TPC – celkový obsah fenolických látek)*

V poslední fázi byla optimalizována doba extrakce. Extrakce probíhala v rozmezí 15 minut – 24 hodin, s navážkou 200 g · l^{-1} a při teplotě 20 °C.

Nejvyšší obsah fenolických látek byl zaznamenán po době extrakce 2 hodin, tato tedy byla zvolena jako optimální (viz tabulka 13). Mezi vzorky byly zaznamenány signifikantní rozdíly (ANOVA, p = 0,0000; p<α).

Tabulka 13 Vliv doby extrakce na celkový obsah fenolických látek v extraktu

Navážka [g · l^{-1}]	Teplota [°C]	Čas [min]	Aø [-]	TPC [µg$_{GAE}$ · ml^{-1}]*
200	20	15	0,291 ± 0,007	476 ± 11^{a}
200	20	30	0,363 ± 0,006	594 ± 9^{b}
200	20	60	0,398 ± 0,004	653 ± 6^{c}
200	20	90	0,408 ± 0,004	669 ± 6^{c}
200	20	120	0,488 ± 0,011	800 ± 17^{d}
200	20	180	0,488 ± 0,010	734 ± 16^{e}
200	20	1440	0,367 ± 0,009	601 ± 15^{b}

** Data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem; (Aø – průměrná hodnota absorbance, TPC – celkový obsah fenolických látek)*

Celkový obsah fenolických látek v extraktu připraveném za optimalizovaných podmínek činil 2841 µg$_{GAE}$ · ml^{-1}. Jak je vidět, kombinací všech optimalizovaných faktorů se obsah fenolických látek v extraktu výrazně zvýšil.

4.2 Senzorické hodnocení vzorků cukrovinek

Senzorické analýzy byly zaměřeny na optimalizaci přídavku extraktu a borůvek do cukrovinek a porovnání optimalizovaných vzorků s obdobnou komerční cukrovinkou. Vzorky byly hodnoceny z hlediska intenzity a příjemnosti barvy, vůně, chuti (případně textury), profilového testu vybraných chutí (sladká, kyselá, ovocná, případně jiná) a celkové přijatelnosti.

Většina dat vykazovala nenormální distribuci, proto byly znázorněny graficky ve formě mediánu (n = 25) a interkvartilového rozptylu a číselně ve formě medián ± směrodatná odchylka. Pokud data splňovala podmínky pro parametrické testování (normální distribuce, homogenní rozptyl) byla testována pomocí analýzy rozptylu ANOVA, v opačném případě byla použita neparametrická varianta, Kruskal-Wallis ANOVA. Pomocí Tukeyho post hoc testu (pro normální distribuci a homogenní rozptyl dat), případně Dunnova testu, byla jednotlivá data dle podobnosti rozdělena do skupin, označených shodnými indexy. Na závěr byla data hodnocena neparametrickou Spearmanovou korelační analýzou.

Senzorického hodnocení se zúčastnilo celkem 25 hodnotitelů, z toho 17 žen a 8 mužů a pouze jeden hodnotitel byl kuřák. Většina hodnotitelů, 20, uvedla, že mají želé cukrovinky velmi rádi, zbylých 5 hodnotitelů želé cukrovinky neměli příliš rádi.

4.2.1 Optimalizace aplikace extraktu borůvek do cukrovinek a jeho vliv na senzorickou kvalitu

V rámci optimalizace extraktu byly zvoleny tři koncentrace přídavku extraktů, konkrétně 15 % hm. (EXT15), 25 % hm. (EXT25) a 35 % hm. (EXT35). Optimální množství přidávaného

extraktu bylo hodnoceno senzorickou analýzou s cílem dosáhnout maximální chutnost/přijatelnost vyrobených cukrovinek.

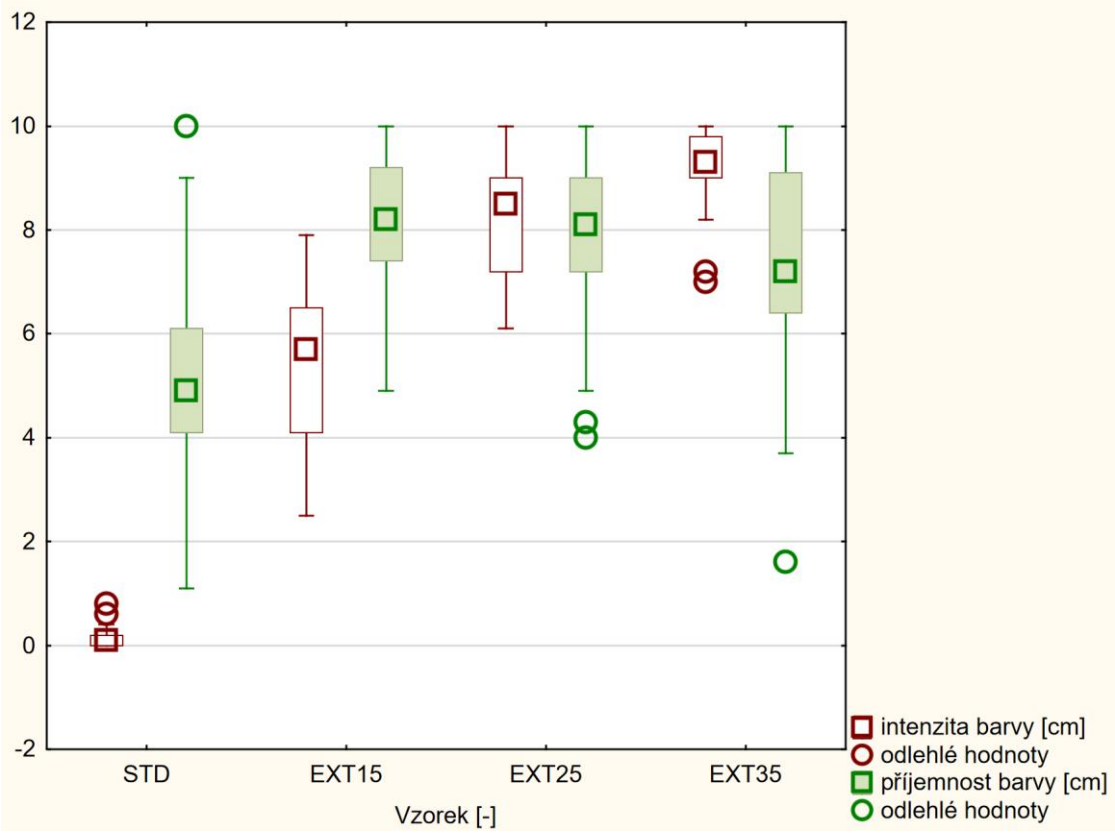
Jak je vidět z tabulky 14, s přídavkem extraktu se podle očekávání výrazně zvyšovala intenzita barvy ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$). Zatímco standardní vzorek (bez přídavku extraktu) byl v podstatě bezbarvý, obohacené cukrovinky získaly výraznou červenofialovou barvu (viz obrázek 22). Příjemnost barvy všech obohacených vzorků však byla srovnatelná ($p = 0{,}0937$; $p>\alpha$) a zároveň výrazně vyšší než u standardu. Je vidět, že hodnotitelé získanou tmavou barvu cukrovinek vnímali pozitivně. Z hlediska intenzity vůně, byl mezi vzorky sice pozorován signifikantní rozdíl ($p = 0{,}0067$; $p<\alpha$), avšak s přídavkem extraktu nedošlo k výraznému zvýšení. Příjemnost vůně byla pro všechny vzorky srovnatelná ($p = 0{,}1201$; $p>\alpha$), což mohlo být způsobeno její nízkou intenzitou. Graficky jsou výsledky znázorněny na obrázcích 12 a 13.

Samotný extrakt měl výraznou fialovočervenou barvu (viz obrázek 11), která se přídavkem do cukrovinek projevila více jako červenofialová; nízké pH cukrovinek (způsobené přídavkem kyseliny citronové) totiž podporovalo červenou barvu anthokyanů. Vůně samotného extraktu nebyla příliš výrazná a byla slabě cítit po borůvkách. Slabá intenzita vůně extraktu následně stála i za nízkou intenzitou vůně cukrovinek.

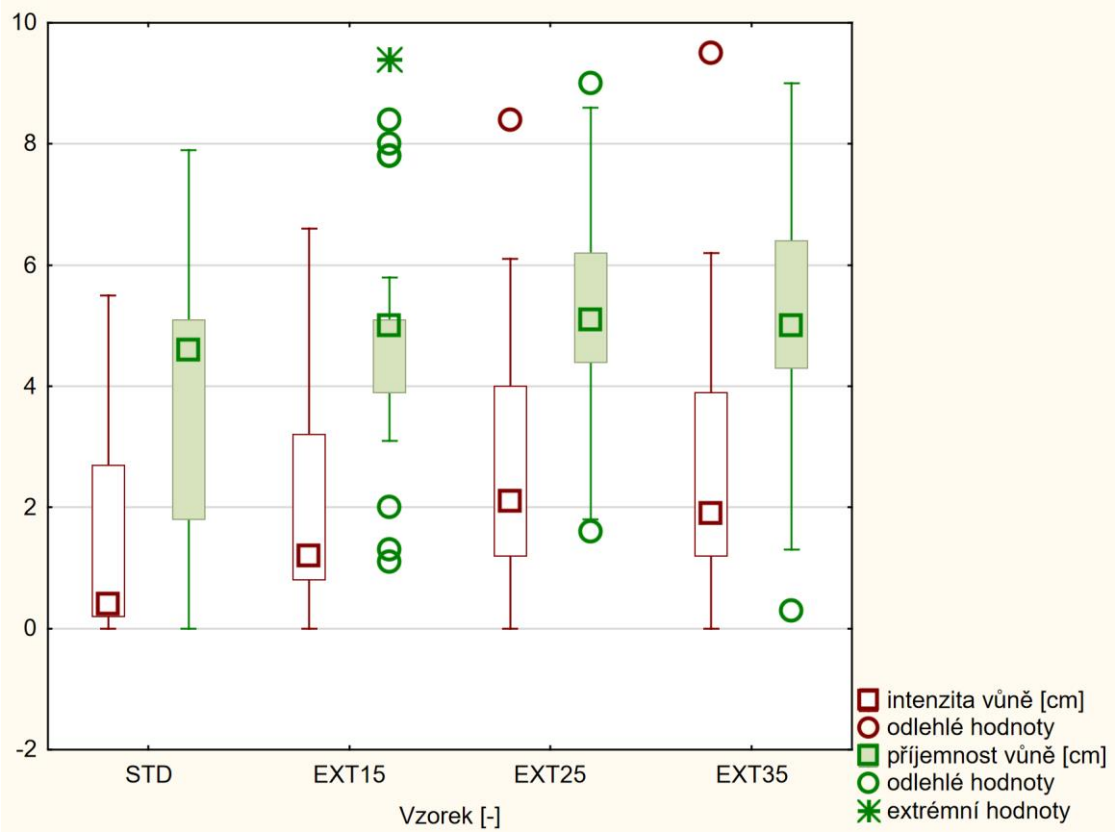
Tabulka 14 Vliv přídavku extraktu na intenzitu a příjemnost barvy a vůně cukrovinek

Vzorek*	**Intenzita barvy**	**Příjemnost barvy**	**Intenzita vůně**	**Příjemnost vůně**
STD	$0{,}1 \pm 0{,}2^{a}$	$4{,}9 \pm 2{,}1^{a}$	$0{,}4 \pm 1{,}6^{a}$	$4{,}6 \pm 2{,}5^{a}$
EXT15	$5{,}7 \pm 1{,}7^{b}$	$8{,}2 \pm 1{,}4^{b}$	$1{,}2 \pm 1{,}8^{a,b}$	$5{,}0 \pm 2{,}1^{a}$
EXT25	$8{,}5 \pm 1{,}2^{c}$	$8{,}1 \pm 1{,}6^{b}$	$2{,}1 \pm 2{,}1^{b}$	$5{,}1 \pm 2{,}0^{a}$
EXT35	$9{,}3 \pm 0{,}8^{c}$	$7{,}2 \pm 2{,}2^{b}$	$1{,}9 \pm 2{,}2^{b}$	$5{,}0 \pm 2{,}2^{a}$

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 12 Vliv přídavku extraktu na intenzitu a příjemnost barvy cukrovinek



Obrázek 13 Vliv přídavku extraktu na intenzitu a příjemnost vůně cukrovinek

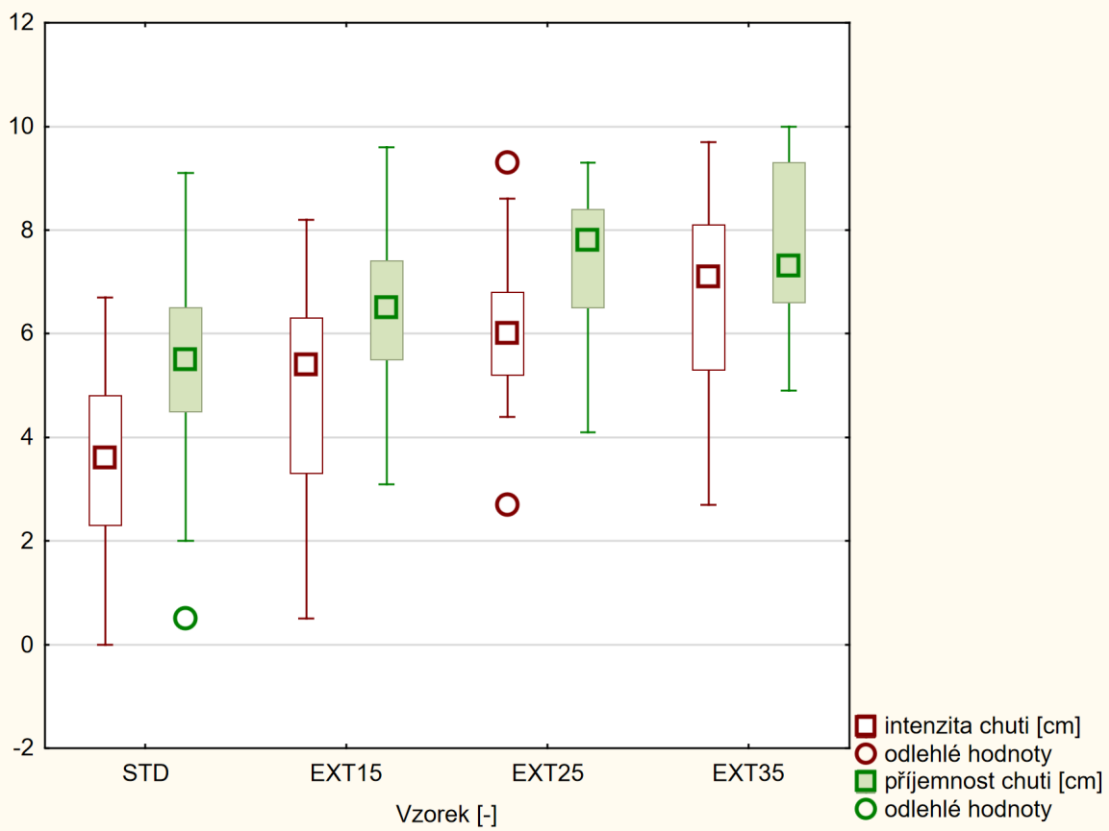
Jak je vidět z tabulky 15, z hlediska intenzity i příjemnosti chuti vykazovaly vzorky signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$). Dle předpokladu, s přídavkem extraktu rostla i intenzita chuti. Příjemnost chuti obohacených vzorků však opět byla téměř srovnatelná a vyšší než standardu (viz obrázek 14).

V rámci profilového testu byly otestovány sladká, kyselá, ovocná a případně „jiná“ chuť. Jiná chuť nebyla hodnotiteli zaznamenána. Chuť borůvek byla hodnotiteli spolehlivě rozpoznána. Z hlediska intenzity sladké chuti vzorky nevykazovaly signifikantní rozdíly ($p = 0{,}6621$; $p>\alpha$). V intenzitě kyselé a ovocné chuti byly mezi vzorky zaznamenány signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$), dle předpokladu se obohacené vzorky lišily od standardu, a s přídavkem extraktu rostla intenzita vnímaných chutí (viz obrázek 15). Je tedy možné říci, že extrakt dodává cukrovinkám kyselou a ovocnou chuť a zároveň nemá vliv na vnímání sladké chuti.

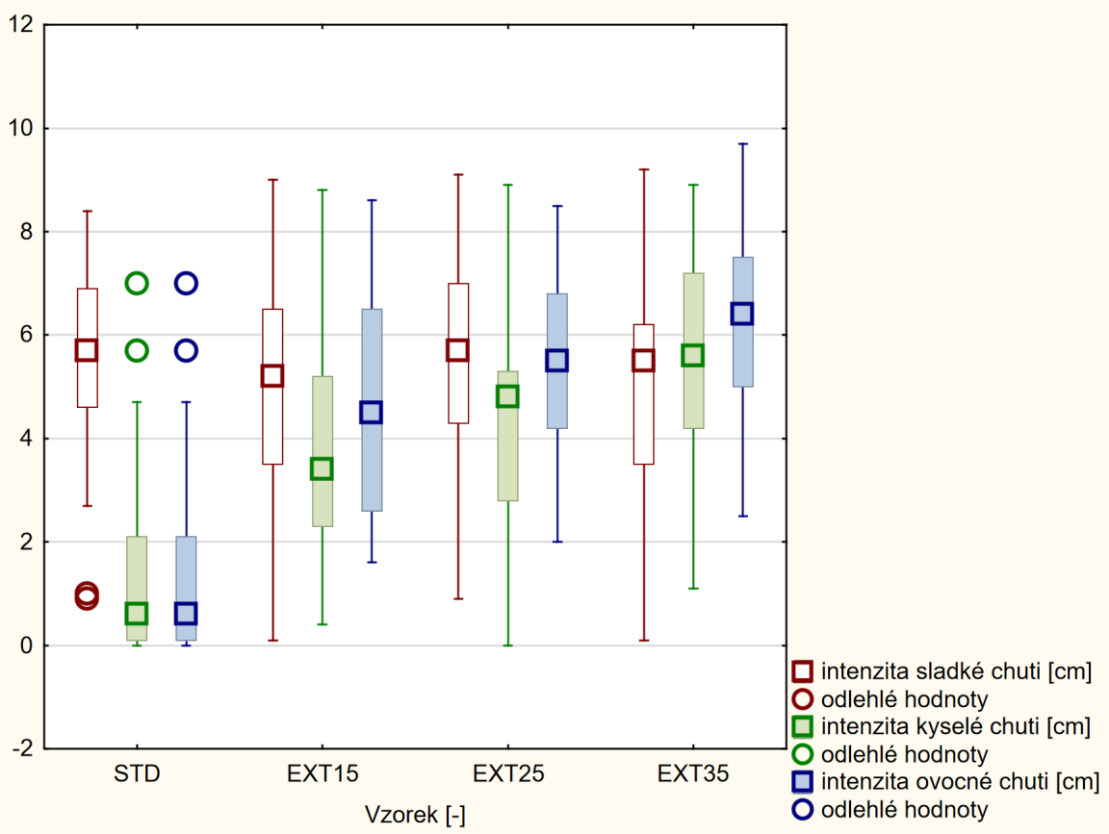
Tabulka 15 Vliv přídavku extraktu na intenzitu a příjemnost chuti a profilový test vybraných chutí cukrovinek

Vzorek*	**Intenzita chuti**	**Příjemnost chuti**	**Profilový test vybraných chutí**		
			Sladká	**Kyselá**	**Ovocná**
STD	$3{,}6 \pm 2{,}0^{a}$	$5{,}5 \pm 2{,}0^{a}$	$5{,}7 \pm 2{,}0^{a}$	$0{,}6 \pm 2{,}1^{a}$	$0{,}6 \pm 2{,}1^{a}$
EXT15	$5{,}4 \pm 2{,}1^{b}$	$6{,}5 \pm 1{,}5^{a,b}$	$5{,}2 \pm 2{,}2^{a}$	$3{,}4 \pm 2{,}4^{b}$	$4{,}5 \pm 2{,}3^{b}$
EXT25	$6{,}0 \pm 1{,}4^{b,c}$	$7{,}8 \pm 1{,}5^{b}$	$5{,}7 \pm 2{,}1^{a}$	$4{,}8 \pm 2{,}1^{b}$	$5{,}5 \pm 1{,}9^{b}$
EXT35	$7{,}1 \pm 1{,}7^{c}$	$7{,}3 \pm 1{,}5^{b}$	$5{,}5 \pm 2{,}1^{a}$	$5{,}6 \pm 2{,}0^{b}$	$6{,}4 \pm 2{,}0^{b}$

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 14 Vliv přídavku extraktu na intenzitu a příjemnost chuti cukrovinek



Obrázek 15 Vliv přídavku extraktu na intenzitu vybraných chutí cukrovinek – profilový test

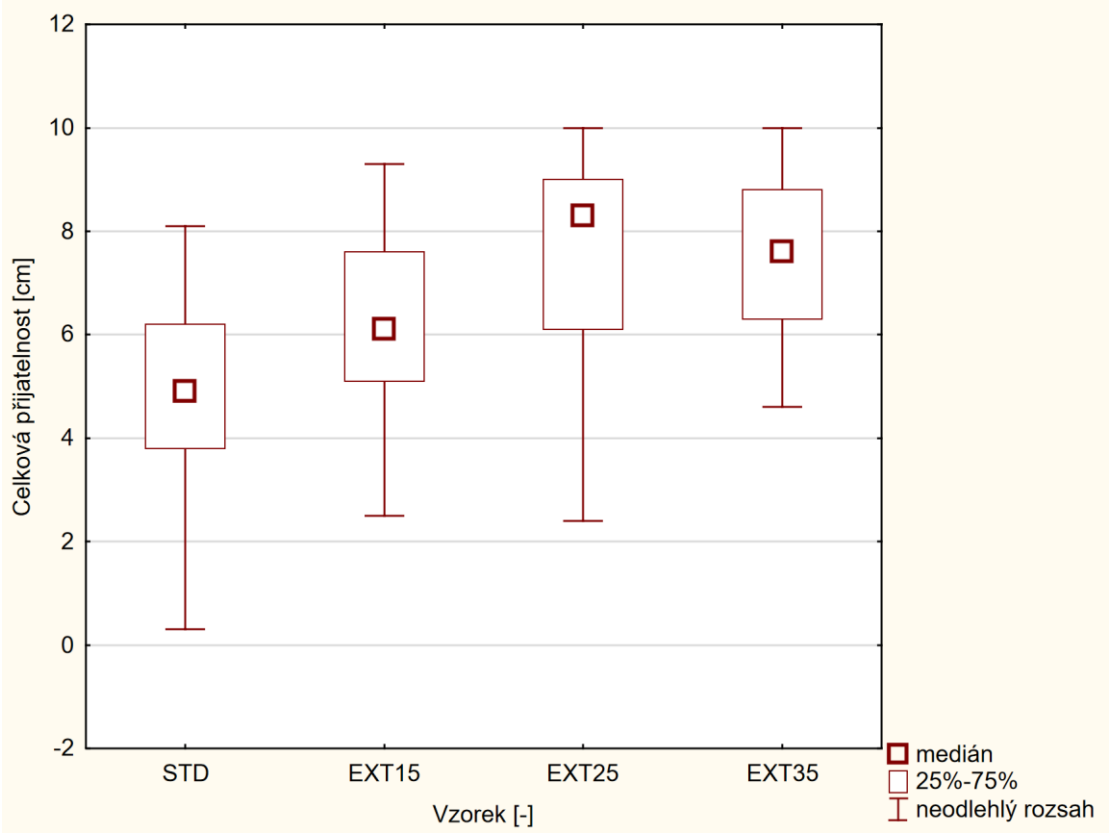
Na závěr panel hodnotitelů hodnotil celkovou přijatelnost vzorků, s ohledem na všechny hodnocené parametry. Jak je vidět z tabulky 16, mezi vzorky byly prokázány signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0001$; $p<\alpha$). S přídavkem extraktu došlo ke zvýšení chutnosti vzorků a jako optimální byl zvolen přídavek extraktu 25 % hm., který vykazoval nejvyšší hodnotu mediánu (8,3 ± 2,0). Graficky jsou výsledky zvýrazněny na obrázku 16.

Dle předpokladu měla na celkovou přijatelnost vzorku nejvyšší vliv příjemnost chuti ($r = 0{,}72$). Korelace (pomocí Spearmanova testu) byla dále zaznamenána mezi intenzitou kyselé a ovocné chuti ($r = 0{,}65$), intenzitou a příjemností chuti ($r = 0{,}64$) a intenzitou chuti s intenzitou ovocné chuti ($r = 0{,}62$).

Tabulka 16 Celková přijatelnost cukrovinek s přídavkem extraktu

Vzorek*	Celková přijatelnost
STD	4,9 ± 2,2[a]
EXT15	6,1 ± 2,0[a,b]
EXT25	8,3 ± 2,0[b]
EXT35	7,6 ± 1,7[b]

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 16 Vliv přídavku extraktu na celkovou přijatelnost cukrovinek

4.2.2 Optimalizace aplikace borůvek do cukrovinek a jejich vliv na senzorickou kvalitu

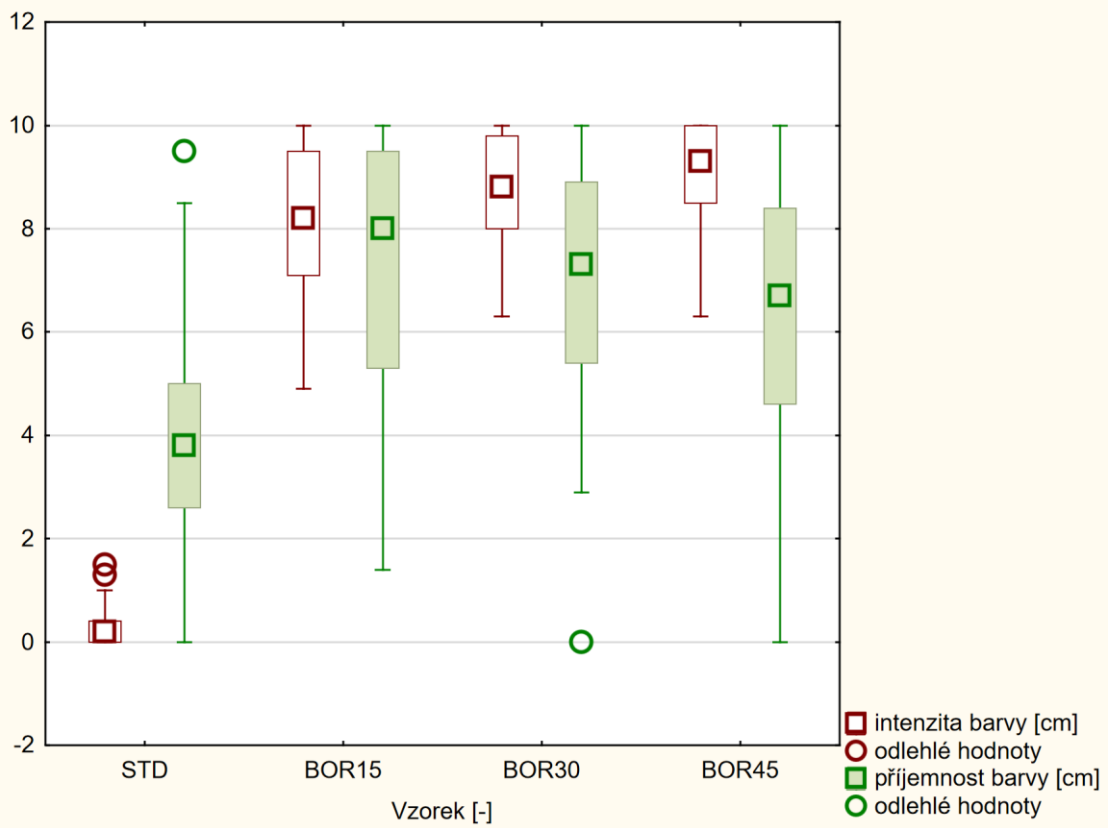
Obdobným způsobem, jako hodnocení přídavku extraktu, bylo provedeno senzorické hodnocení optimálního přídavku borůvek. Byly zvoleny tři koncentrace, konkrétně 15 % hm. (BOR15), 30 % hm. (BOR30) a 45 % hm. (BOR45).

Dle předpokladu, stejně jako v případě extraktu, s rostoucí koncentrací borůvek rostla i intenzita barvy. Jak je vidět z tabulky 17, intenzita i příjemnost všech obohacených vzorků byla srovnatelná a zároveň výrazně vyšší než standardu, avšak s rostoucí koncentrací borůvek příjemnost barvy slabě klesala. Z hlediska intenzity vůně byly mezi vzorky pozorovány signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$), standard vykazoval výrazně nižší hodnoty než ostatní vzorky. Příjemnost vůně se mezi vzorky lišila ($p = 0{,}0114$; $p< \alpha$), avšak rozdíly nebyly příliš veliké. Graficky jsou výsledky zvýrazněny na obrázcích 17 a 18.

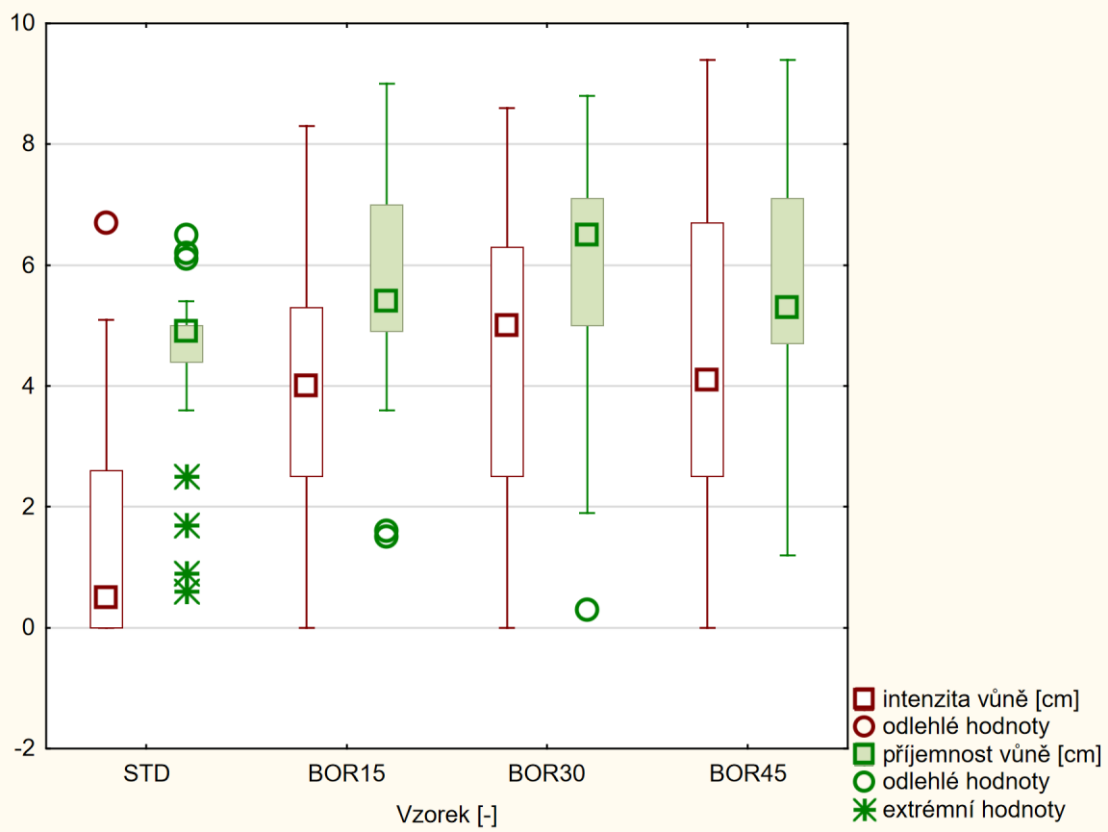
Tabulka 17 Vliv přídavku borůvek na intenzitu a příjemnost barvy a vůně cukrovinek

Vzorek*	Intenzita barvy	Příjemnost barvy	Intenzita vůně	Příjemnost vůně
STD	$0{,}2 \pm 0{,}4^{a}$	$3{,}8 \pm 2{,}5^{a}$	$0{,}5 \pm 1{,}9^{a}$	$4{,}9 \pm 1{,}5^{a}$
BOR15	$8{,}2 \pm 1{,}4^{b}$	$8{,}0 \pm 2{,}5^{b}$	$4{,}0 \pm 2{,}4^{b}$	$5{,}4 \pm 1{,}9^{a,b}$
BOR30	$8{,}8 \pm 1{,}2^{b}$	$7{,}3 \pm 2{,}5^{b}$	$5{,}0 \pm 2{,}5^{b}$	$6{,}5 \pm 2{,}1^{b}$
BOR45	$9{,}3 \pm 1{,}1^{b}$	$6{,}7 \pm 2{,}5^{b}$	$4{,}1 \pm 2{,}7^{b}$	$5{,}3 \pm 2{,}0^{a,b}$

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 17 Vliv přídavku borůvek na intenzitu a příjemnost barvy cukrovinek



Obrázek 18 Vliv přídavku borůvek na intenzitu a příjemnost vůně cukrovinek

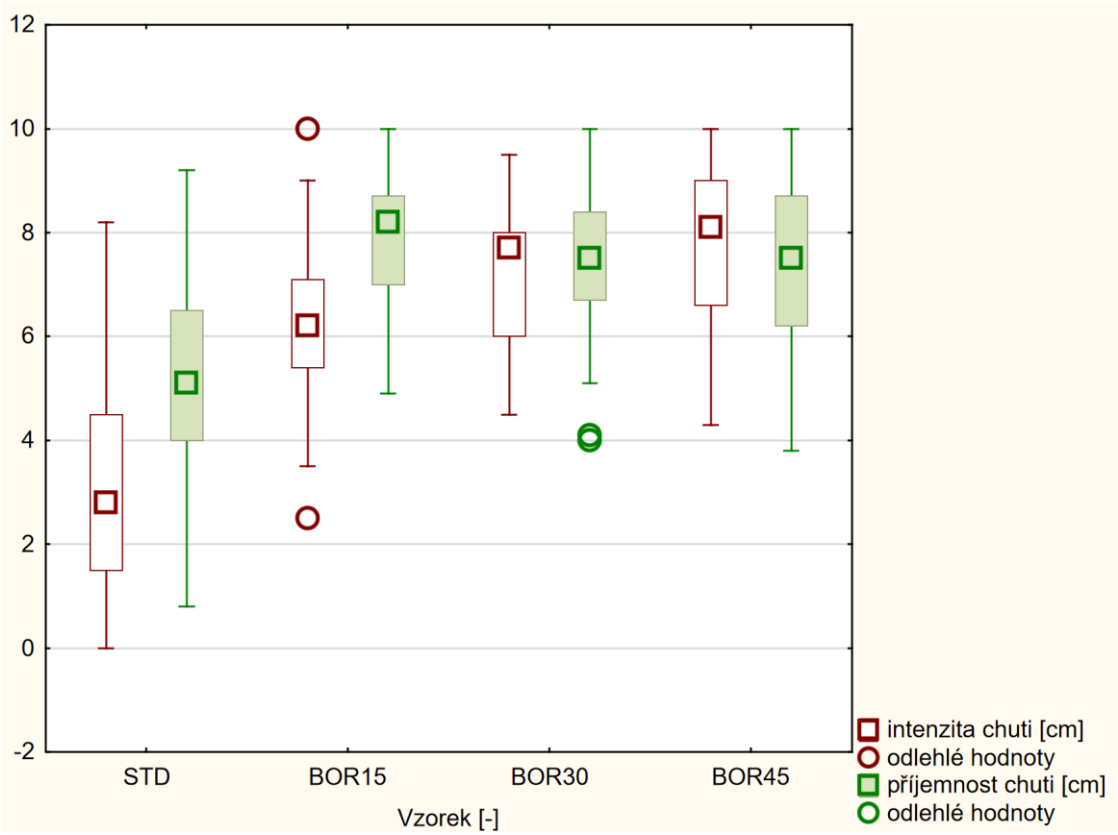
Z hlediska intenzity i příjemnosti chuti vykazovaly vzorky signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$) (viz tabulka 18). Dle předpokladu obohacené vzorky vykazovaly výrazně vyšší intenzitu chuti, která rostla s rostoucím přídavkem borůvek. Příjemnost chuti obohacených vzorků byla vyšší než standardu, avšak borůvkové vzorky mezi sebou nevykazovaly výrazné rozdíly (viz obrázek 19).

V rámci profilového testu byly otestovány sladká, kyselá, ovocná a případně „jiná“ chuť. Stejně jako v případě cukrovinek s přídavkem extraktu nebyla jiná chuť hodnotiteli zaznamenána a chuť borůvek byla spolehlivě rozpoznána. Intenzita sladké chuti byla pro všechny vzorky srovnatelná ($p = 0{,}9368$; $p>\alpha$), přestože přídavek borůvek znamenal náhradu části cukrosirupového roztoku borůvkami. Dle předpokladu byly z hlediska intenzity kyselé a ovocné chuti mezi vzorky zaznamenány signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$) a s přídavkem borůvek rostla intenzita vnímaných chutí (viz obrázek 20).

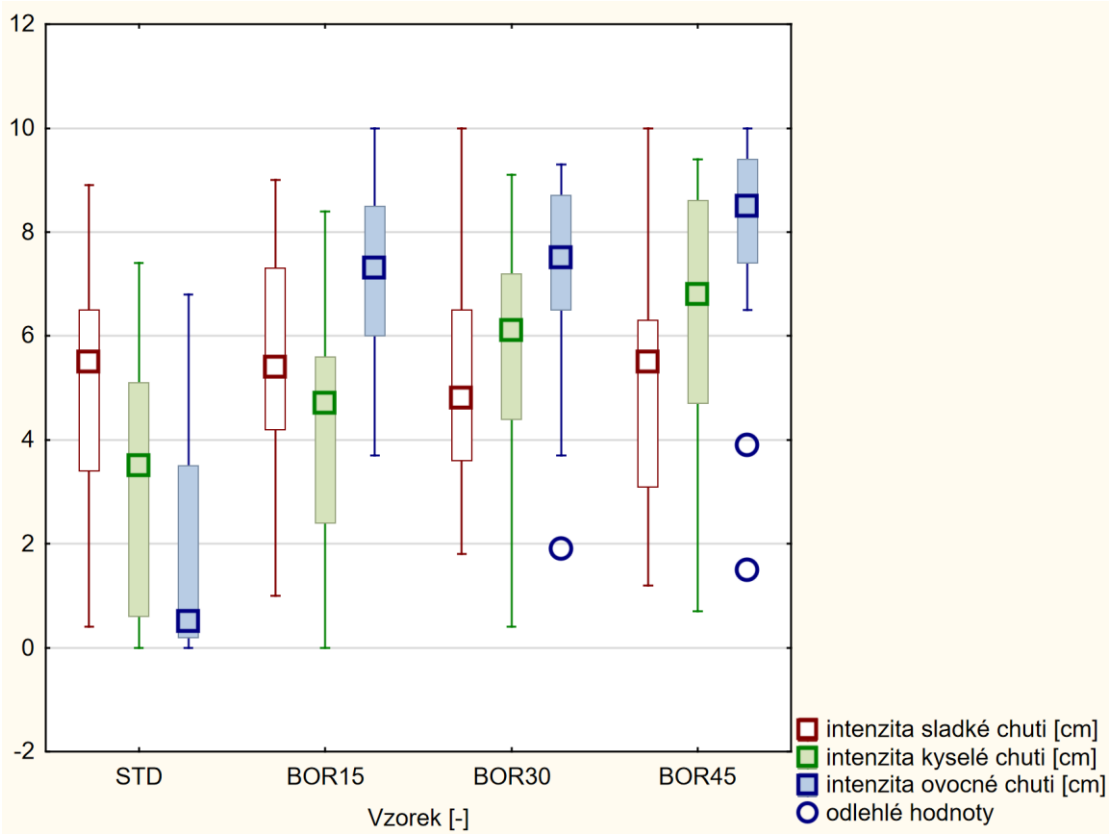
Tabulka 18 Vliv přídavku borůvek na intenzitu a příjemnost chuti a profilový test vybraných chutí cukrovinek

Vzorek*	**Intenzita chuti**	**Příjemnost chuti**	**Profilový test vybraných chutí**		
			Sladká	**Kyselá**	**Ovocná**
STD	$2{,}8 \pm 2{,}2^{a}$	$5{,}1 \pm 2{,}0^{a}$	$5{,}5 \pm 2{,}2^{a}$	$3{,}5 \pm 2{,}5^{a}$	$0{,}5 \pm 2{,}6^{a}$
BOR15	$6{,}2 \pm 1{,}8^{b}$	$8{,}2 \pm 1{,}4^{b}$	$5{,}4 \pm 2{,}0^{a}$	$4{,}7 \pm 2{,}2^{a,b}$	$7{,}3 \pm 1{,}6^{b}$
BOR30	$7{,}7 \pm 1{,}4^{b,c}$	$7{,}5 \pm 1{,}7^{b}$	$4{,}8 \pm 2{,}1^{a}$	$6{,}1 \pm 2{,}3^{b,c}$	$7{,}5 \pm 1{,}9^{b}$
BOR45	$8{,}1 \pm 1{,}6^{c}$	$7{,}5 \pm 1{,}9^{b}$	$5{,}5 \pm 2{,}4^{a}$	$6{,}8 \pm 2{,}2^{c}$	$8{,}5 \pm 2{,}0^{b}$

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 19 Vliv přídavku borůvek na intenzitu a příjemnost chuti cukrovinek



Obrázek 20 Vliv přídavku borůvek na intenzitu vybraných chutí cukrovinek – profilový test

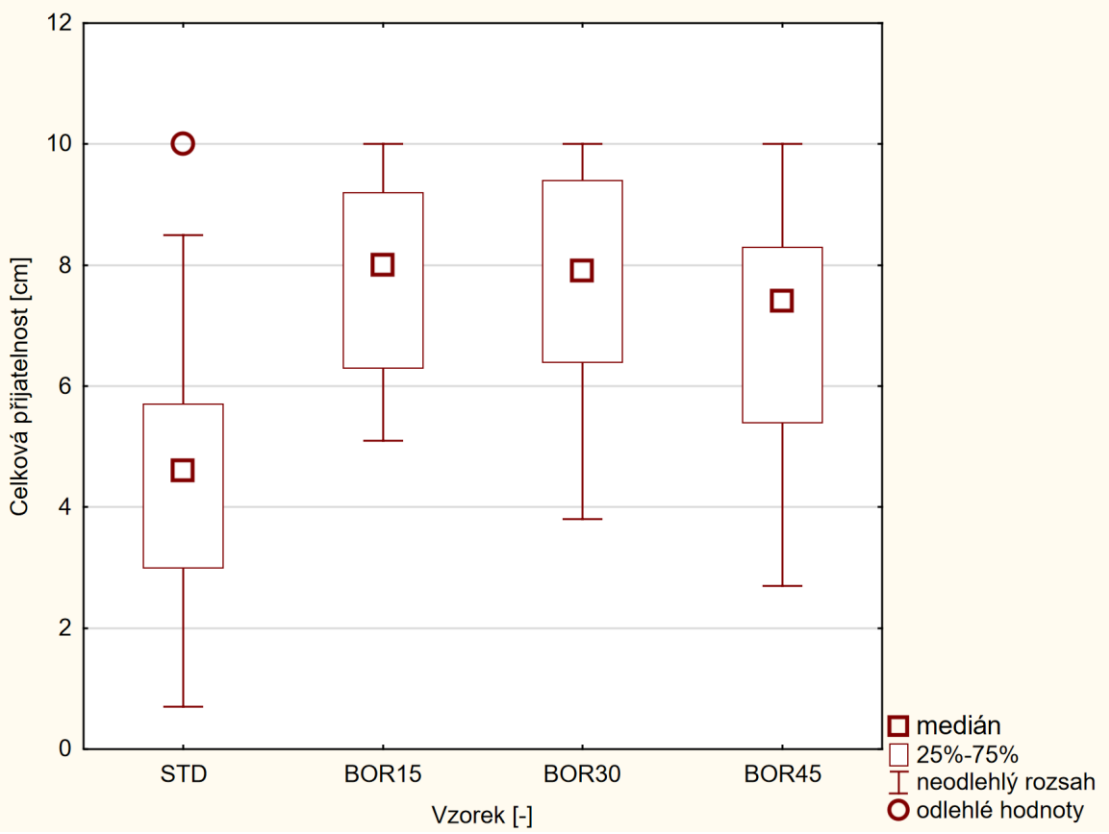
Na závěr byla hodnocena celková přijatelnost vzorků, s ohledem na všechny hodnocené parametry. Jak je vidět z tabulky 19, mezi vzorky byly prokázány signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$). Obohacené vzorky sice vykazovaly vyšší chutnost než standard, avšak mezi sebou nevykazovaly žádné rozdíly (viz obrázek 21). Jako optimální přídavek borůvek byl tedy zvolen 15 % hm., a to především pro zachování ekonomičnosti výroby.

Na celkovou přijatelnost vzorku měla dle předpokladu nejvyšší vliv příjemnost chuti ($r = 0{,}75$). Dále byly zaznamenány korelace mezi intenzitou chuti a intenzitou ovocné chuti ($r = 0{,}65$).

Tabulka 19 Vliv přídavku borůvek na celkovou přijatelnost cukrovinek

Vzorek*	Celková přijatelnost
STD	$4{,}6 \pm 2{,}2^{a}$
BOR15	$8{,}0 \pm 1{,}7^{b}$
BOR30	$7{,}9 \pm 1{,}7^{b}$
BOR45	$7{,}4 \pm 2{,}2^{b}$

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 21 Vliv přídavku borůvek na celkovou přijatelnost cukrovinek

4.2.3 Senzorické srovnání optimalizovaných cukrovinek s komerčními

V poslední senzorické analýze byly srovnány standard (STD), optimalizované obohacené vzorky (přídavek extraktu 25 % hm. EXT, borůvek 15 % hm. BOR) a komerční borůvková cukrovinka (KOM) (viz obrázek 22).

Obrázek 22 Vzorky senzoricky hodnocených cukrovinek (zleva STD, EXT, BOR, KOM)

Jak je vidět z tabulky 20, komerční cukrovinka vykazovala výrazně nejvyšší tuhost a současně nejnižší příjemnost textury (trend vykazuje negativní korelaci s r = –0,56). Ostatní (námi vyrobené) vzorky byly z hlediska tuhosti a příjemnosti textury srovnatelné (viz obrázek 23).

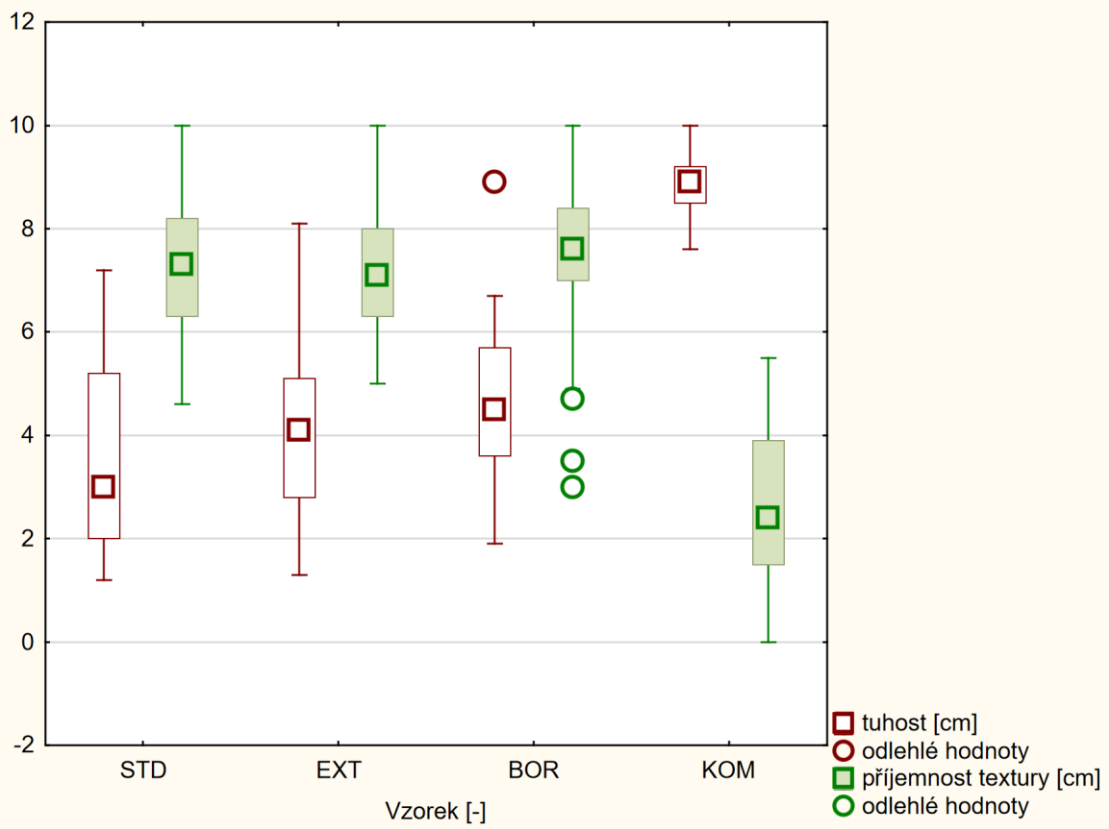
Nejnižší intenzitu barvy dle předpokladu vykazoval standard. Obohacené vzorky vykazovaly vyšší intenzitu, intenzita vzorků EXT a BOR byla srovnatelná. Příjemnost barvy byla srovnatelná pro námi vyrobené obohacené vzorky; je zajímavé, že příjemnost barvy standardu a komerčního vzorku byla hodnocena obdobně, přestože se jejich barva výrazně lišila; u obou ale bylo hodnocení výrazně nižší než u obohacených vzorků (viz obrázek 24). Barva komerčních cukrovinek byla zakalená a výrazně do hněda. Hodnotitelům tedy více vyhovovala výraznější červenofialová barva vyrobených obohacených cukrovinek.

Výrazně nejvyšší intenzitu vůně vykazoval komerční vzorek, můžeme se domnívat, že byl aromatizován, i když na obalu je uvedena pouze borůvková šťáva. U zbývajících vzorků byla intenzita téměř srovnatelná. Jak je vidět na obrázku 25, s vysokou intenzitou byla spojena i velmi nízká příjemnost vůně komerčního vzorku. Příjemnost vůně obohacených vzorků a standardu byla srovnatelná.

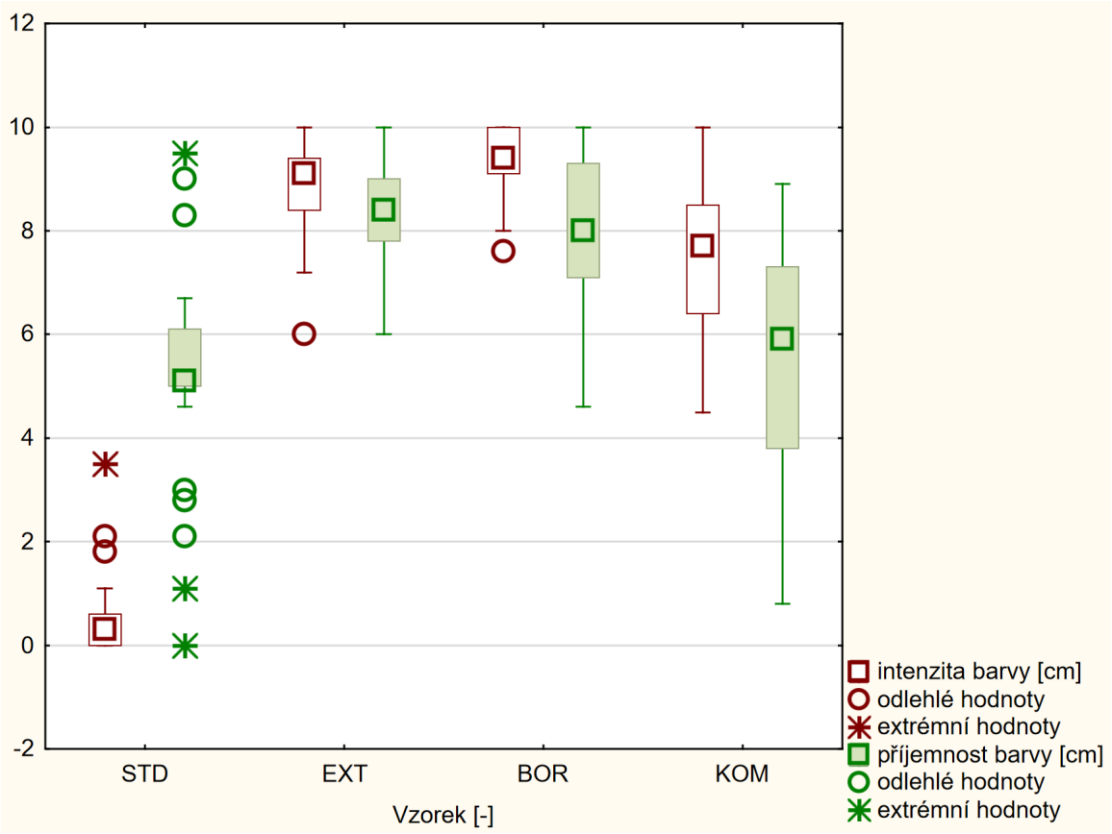
Tabulka 20 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – tuhost a příjemnost textury, intenzita a příjemnost barvy a vůně

Vzorek*	Tuhost	Příjemnost textury	Intenzita barvy	Příjemnost barvy	Intenzita vůně	Příjemnost vůně
STD	3,0 ± 1,8^{a}	7,3 ± 1,5^{a}	0,3 ± 0,8^{a}	5,1 ± 2,2^{a}	0,9 ± 1,8^{a}	4,6 ± 1,7^{a}
EXT	4,1 ± 1,8^{a}	7,1 ± 1,3^{a}	9,1 ± 1,0^{b,c}	8,4 ± 1,1^{b}	2,4 ± 2,1^{a,b}	5,1 ± 1,3^{a}
BOR	4,5 ± 1,7^{a}	7,6 ± 1,8^{a}	9,4 ± 0,7^{b}	8,0 ± 1,5^{b}	3,2 ± 2,3^{b}	5,3 ± 1,5^{a}
KOM	8,9 ± 0,6^{b}	2,4 ± 1,7^{b}	7,7 ± 1,4^{c}	5,9 ± 2,2^{a}	7,5 ± 1,8^{c}	1,9 ± 1,7^{b}

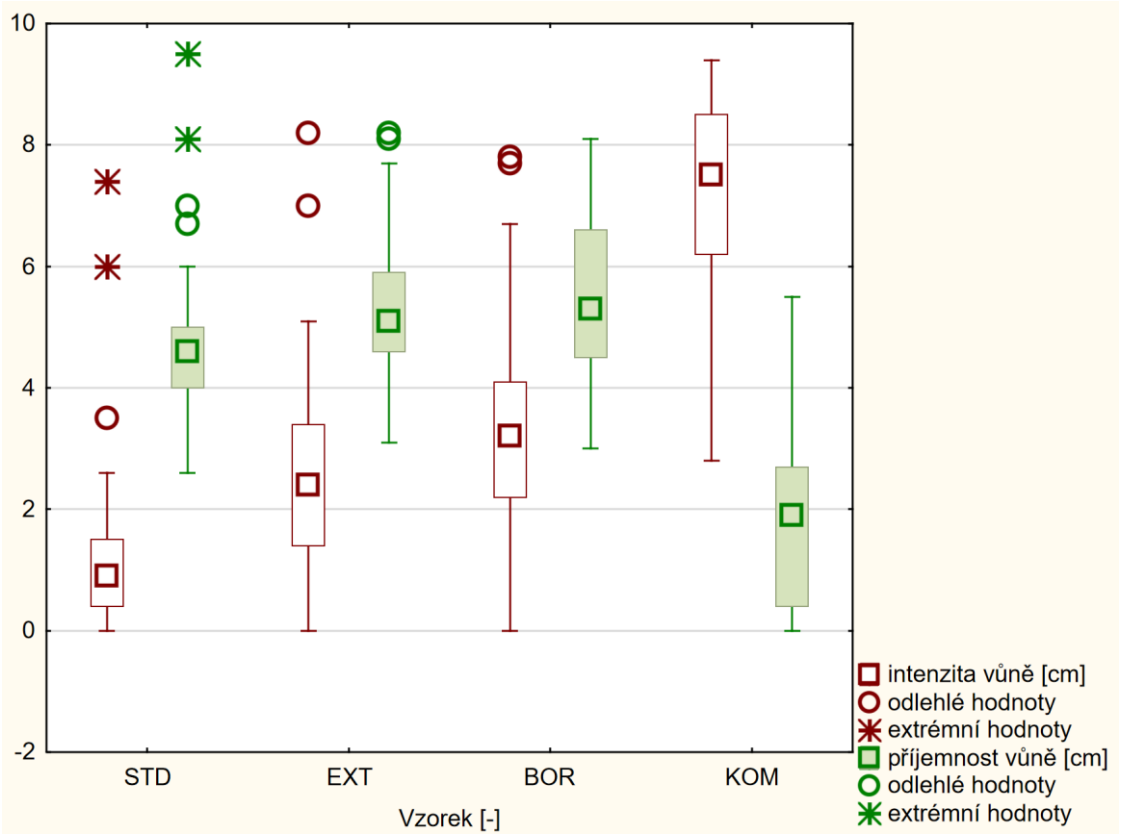
** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 23 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – tuhost a příjemnost textury



Obrázek 24 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – intenzita a příjemnost barvy



Obrázek 25 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – intenzita a příjemnost vůně

Jak je vidět z tabulky 21, z hlediska intenzity i příjemnosti chuti byly mezi vzorky pozorovány signifikantní rozdíly ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$). Dle předpokladu standard vykazoval nejnižší intenzitu chuti a intenzita zbývajících vzorků byla srovnatelná. Výrazně nejnižší příjemnost chuti vykazoval komerční vzorek, nejvyšší pak obohacené vzorky EXT a BOR (viz obrázek 26).

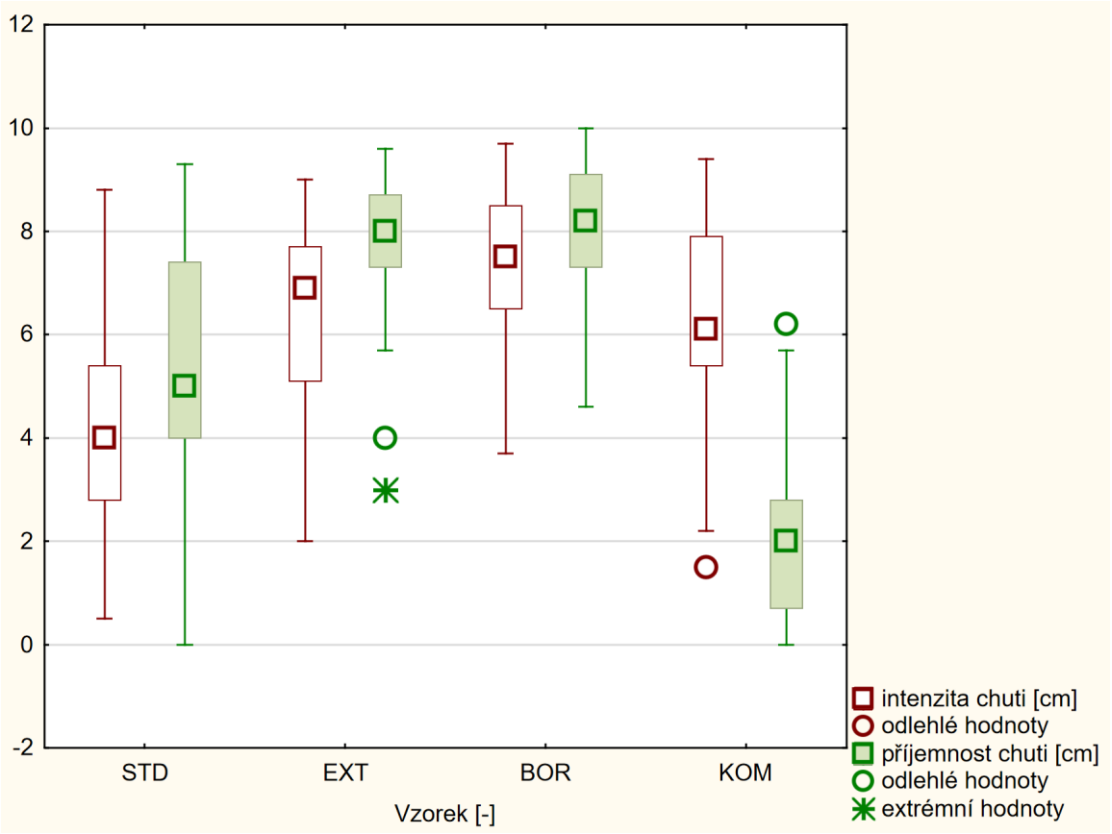
Z hlediska profilového testu byly hodnoceny intenzity sladké, kyselé, ovocné a jiné chuti. Jinou chuť zaznamenalo 10 hodnotitelů (s intenzitou $7{,}2 \pm 1{,}9$) a to pouze u komerčního vzorku. Tu přirovnávali k chuti želatiny (pravděpodobně příliš vysoký přídavek želatiny souvisí i s jejich vysokou tuhostí), medu a diabetických cukrovinek; jeden hodnotitel označil vzorek přímo za zkažený.

Intenzita sladké chuti byla pro všechny vzorky srovnatelná ($p = 0{,}2576$; $p>\alpha$). Nejnižší intenzitu kyselé chuti vykazoval komerční vzorek, který se signifikantně lišil od zbývajících ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$), jejichž kyselá chuť byla srovnatelná. Nejnižší intenzitu ovocné chuti vykazoval dle předpokladu standard, srovnatelnou hodnotu pak vykazoval kupodivu i komerční vzorek. Intenzita ovocné chuti obohacených vzorků byla výrazně vyšší a rovněž srovnatelná (viz obrázek 27).

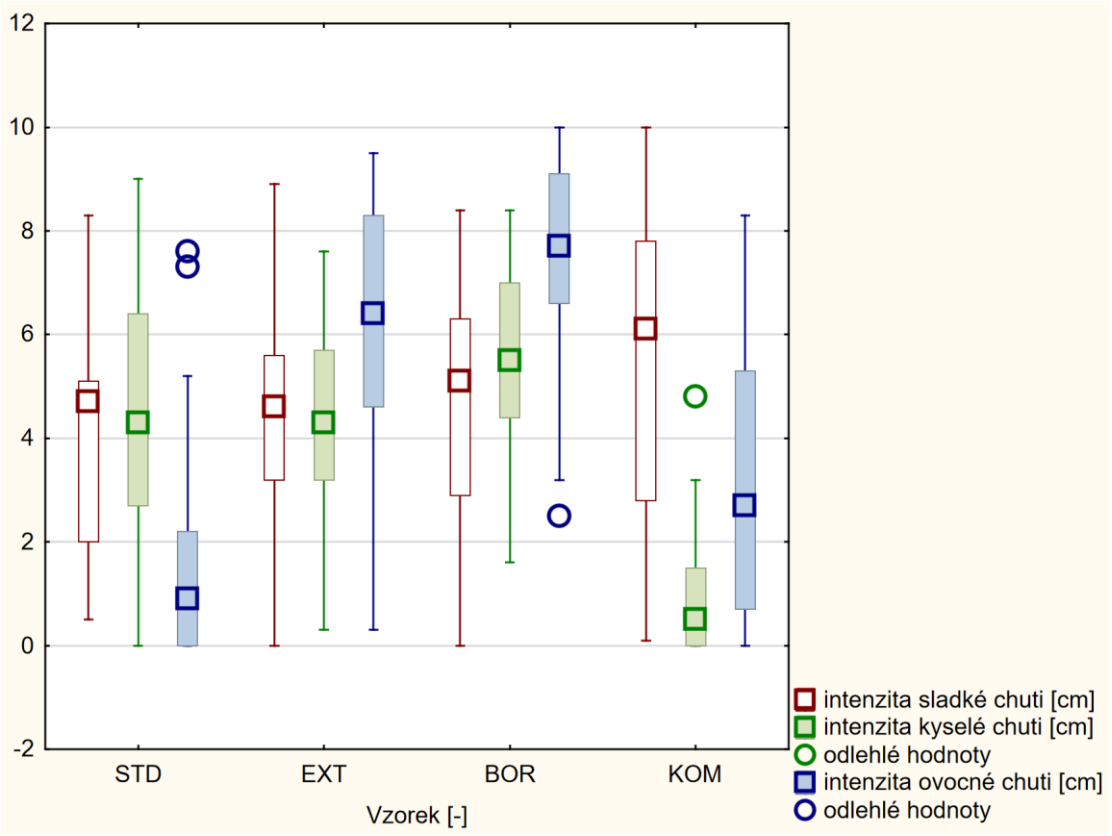
Tabulka 21 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – intenzita a příjemnost chuti, profilový test vybraných chutí

Vzorek*	**Intenzita chuti**	**Příjemnost chuti**	**Profilový test vybraných chutí**		
			Sladká	**Kyselá**	**Ovocná**
STD	$4{,}0 \pm 2{,}3^{a}$	$5{,}0 \pm 2{,}4^{a}$	$4{,}7 \pm 2{,}0^{a}$	$4{,}3 \pm 2{,}4^{a}$	$0{,}9 \pm 2{,}3^{a}$
EXT	$6{,}9 \pm 2{,}0^{b}$	$8{,}0 \pm 1{,}5^{b}$	$4{,}6 \pm 2{,}1^{a}$	$4{,}3 \pm 1{,}9^{a}$	$6{,}4 \pm 2{,}6^{b}$
BOR	$7{,}5 \pm 1{,}6^{b}$	$8{,}2 \pm 1{,}3^{b}$	$5{,}1 \pm 2{,}1^{a}$	$5{,}5 \pm 1{,}8^{a}$	$7{,}7 \pm 2{,}1^{b}$
KOM	$6{,}1 \pm 2{,}2^{b}$	$2{,}0 \pm 1{,}7^{c}$	$6{,}1 \pm 3{,}0^{a}$	$0{,}5 \pm 1{,}2^{b}$	$2{,}7 \pm 2{,}6^{a}$

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 26 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – intenzita a příjemnost chuti



Obrázek 27 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – profilový test vybraných chutí

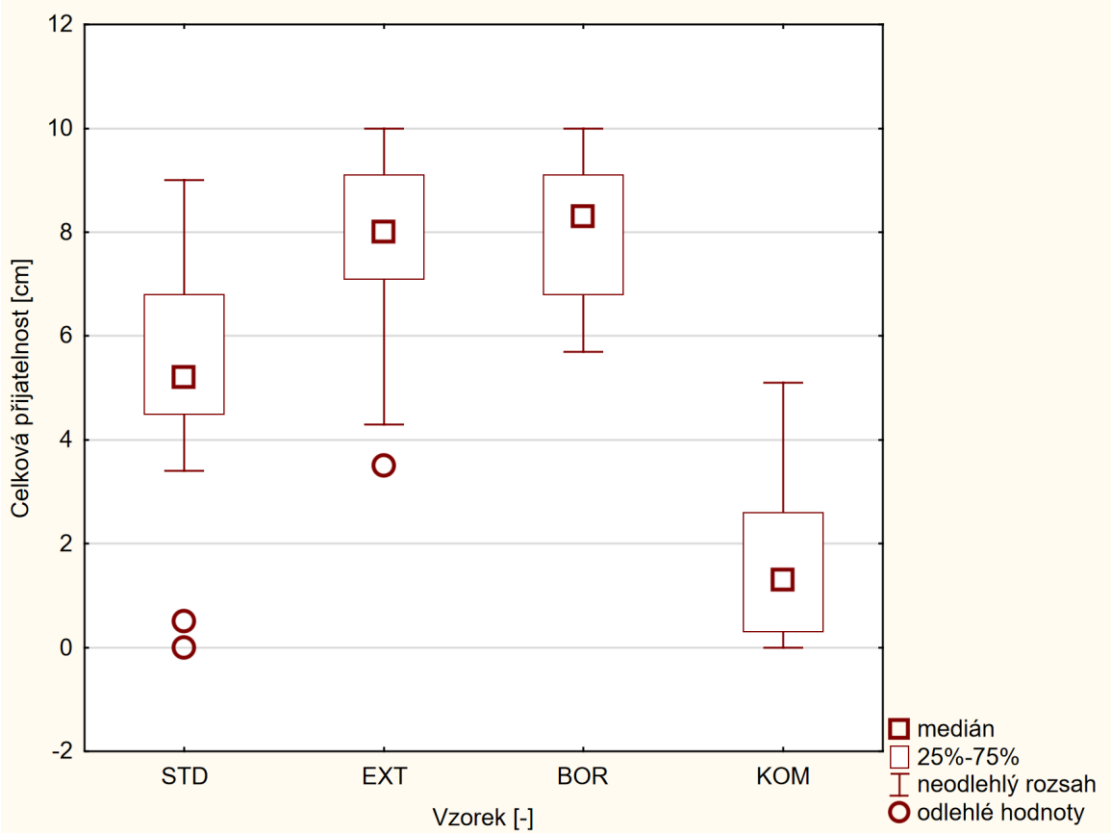
Z hlediska celkové přijatelnosti, se mezi sebou jednotlivé vzorky signifikantně lišily ($p = 0{,}0000$; $p<\alpha$). Nejvyšší hodnoty vykazovaly obohacené vzorky EXT a BOR, které byly v rámci všech hodnocených parametrů srovnatelné. Dle předpokladu, z hodnocení všech výše uvedených parametrů, nejhůře dopadl vzorek komerční (viz tabulka 22 a obrázek 28).

Na celkovou přijatelnost vzorků měla nejvyšší vliv příjemnost chuti ($r = 0{,}90$), vůně ($r = 0{,}70$), intenzita ovocné chuti ($r = 0{,}66$), příjemnost barvy ($r = 0{,}60$) naopak negativní vliv měla tuhost vzorků ($r = –0{,}64$). Dále byly zaznamenány korelace mezi intenzitou a příjemností chuti ($r = 0{,}65$), intenzitou ovocné chuti a příjemností chuti ($r = 0{,}65$), intenzitou kyselé chuti a příjemností chuti ($r = 0{,}61$) a intenzitou chuti a ovocné chuti ($r = 0{,}60$).

Tabulka 22 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – celková přijatelnost vzorků

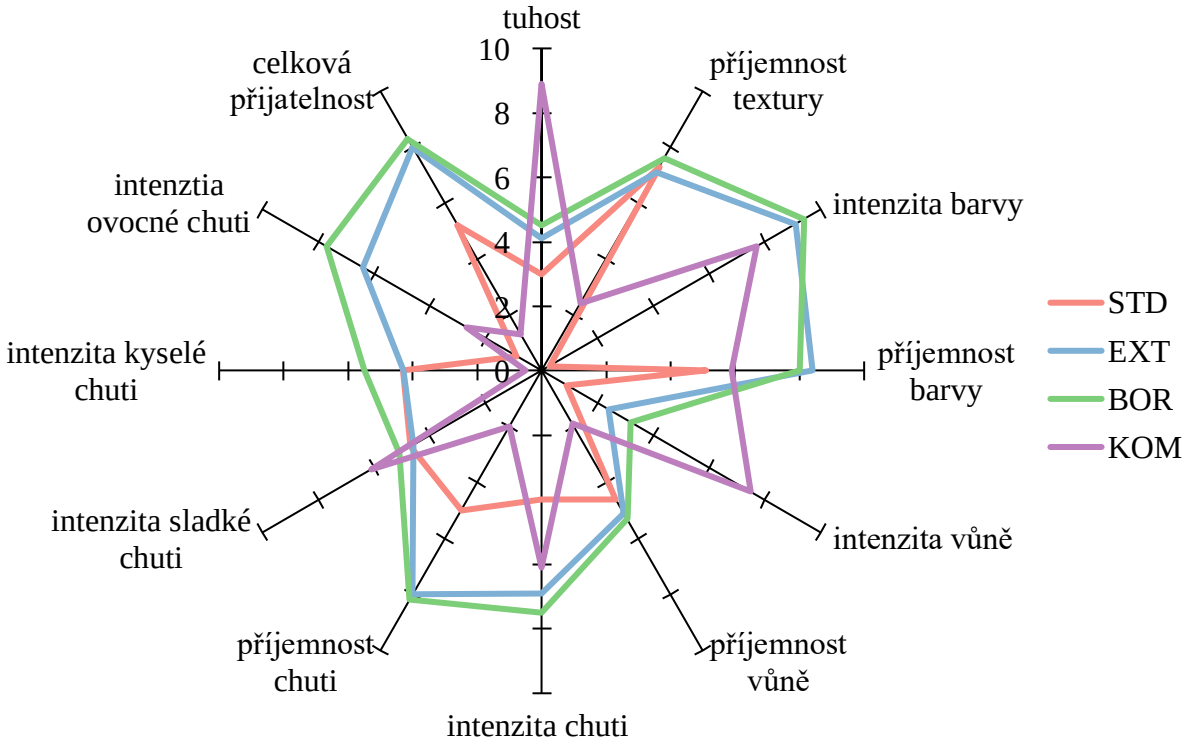
Vzorek*	Celková přijatelnost
STD	$5{,}2 \pm 2{,}2^{a}$
EXT	$8{,}0 \pm 1{,}7^{b}$
BOR	$8{,}3 \pm 1{,}7^{b}$
KOM	$1{,}3 \pm 1{,}5^{c}$

** Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10; hodnoty jsou uvedeny v [cm]; data bez signifikantního rozdílu jsou označena stejným indexem*



Obrázek 28 Srovnání vyrobených modelových cukrovinek s komerčními – celková přijatelnost

Na závěr byly všechny senzoricky hodnocené parametry uspořádány do souhrnného grafu. Jak je vidět na obrázku 29, obohacené vzorky EXT a BOR byly ve všech parametrech téměř srovnatelné. Je těžké tedy určit, který ze vzorků byl z hlediska senzorického hodnocení lepší.



Obrázek 29 Srovnání všech senzoricky hodnocených parametrů (standard vs. obohacené vzorky vs. komerční vzorek)

4.3 Identifikace těkavých látek

Těkavé látky ve vzorcích byly stanoveny metodou HS-SPME-GC-MS a identifikovány srovnáním hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou. Všechny identifikované látky jsou uvedeny v tabulkách 23 a 24. Tabulka 23 obsahuje AAL identifikované v extraktu a v borůvkách, tabulka 24 AAL identifikované ve vzorcích cukrovinek – STD (standard), EXT (optimalizovaný přídavek extraktu), BOR (optimalizovaný přídavek borůvek) a KOM (komerční).

Každá identifikovaná sloučenina je uvedena spolu s aritmetickým průměrem retenčního času (r_t) ze tří měření (n = 3). Relativní směrodatná odchylka retenčního času se pohybovala do 0,5 %, její hodnoty proto nebyly do tabulky zaneseny. K jednotlivým identifikovaným sloučeninám byly vypočteny hodnoty retenčních indexů (RI) (Van den Dool a Kratz), které byly porovnány s hodnotami uvedenými v literatuře (v rozmezí 90 % intervalu spolehlivosti) [78]. U všech sloučenin je také uvedeno procentuální zastoupení sloučeniny (rel. %) ve vzorku jako průměr (n = 3) ± směrodatná odchylka.

K identifikovaným AAL byl dále doplněn profil FEMA (Flavours and Extracts Manufacturers Association) určený Asociací výrobců aromat a extraktů [79; 80], který charakterizuje aroma zastoupených látek.

Ukázky chromatogramů jednotlivých vzorků jsou uvedeny v přílohách 3–8.

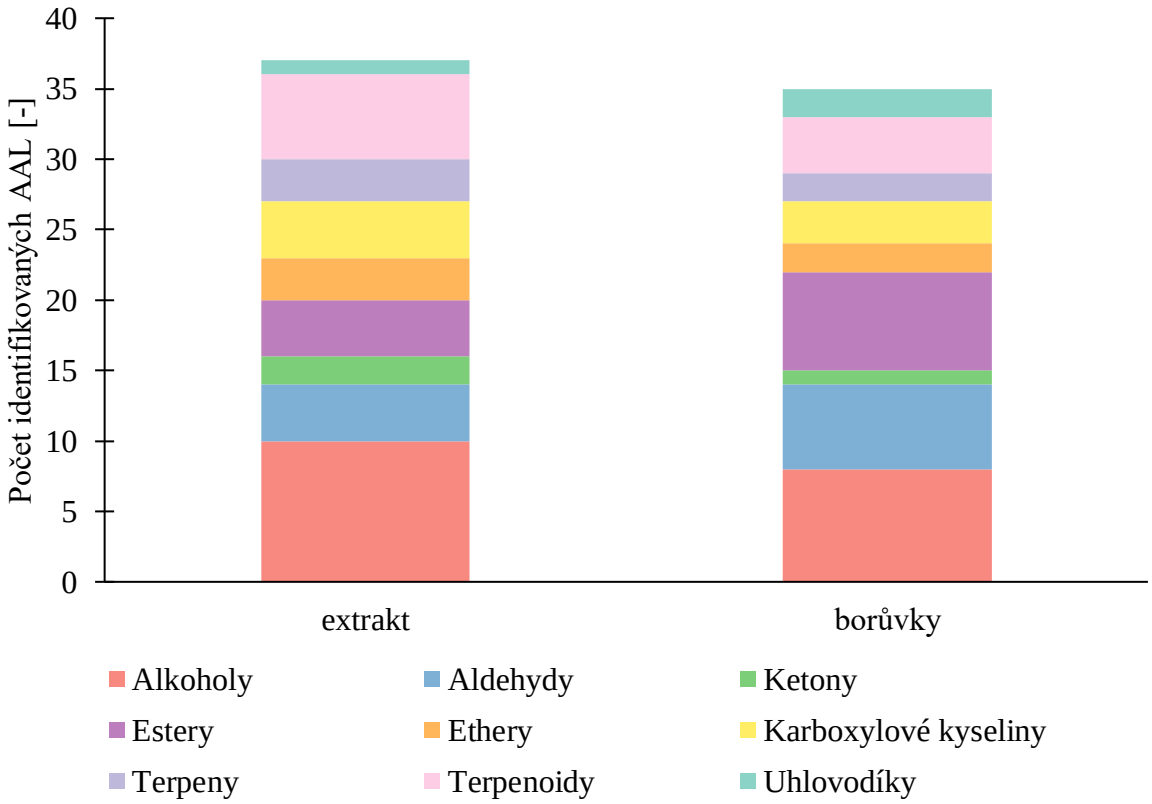
4.3.1 Identifikace těkavých látek ve vzorku extraktu a borůvek

V připraveném borůvkovém extraktu bylo identifikováno celkem 37 AAL (viz obrázek 30), z toho 10 alkoholů, 6 terpenoidů, 4 aldehydy, 4 estery, 4 karboxylové kyseliny, 3 ethery, 3 terpeny, 2 ketony a 1 uhlovodík. Nejvyšší zastoupení zaujímal 2-ethylhexanol (13,9 %), linalool (10,9 %), ethyl-3-methyl-butanoát (10,1 %), dihydromyrcenol (8,7 %) a (Z) hex-3-enol (5,9 %). Tyto konkrétní látky dodávaly extraktu sladké, květinové a ovocné (po jablcích a citrusech) aroma.

V borůvkách bylo identifikováno celkem 35 AAL (viz obrázek 30), z toho 8 alkoholů, 7 esterů, 6 aldehydů, 4 terpenoidy, 3 karboxylové kyseliny, 2 ethery, 2 terpeny, 2 uhlovodíky a 1 keton. Nejvyšší zastoupení zaujímal ethyl-3-methyl-butanoát (48,3 %), dále pak (E) hex-2-enal (10,7 %), hexanal (6,3 %) a ethyl-2-methyl-butanoát (5,6 %). Tyto konkrétní látky dodávaly borůvkám ovocné (po jablcích a borůvkách), květinové a zelené aroma.

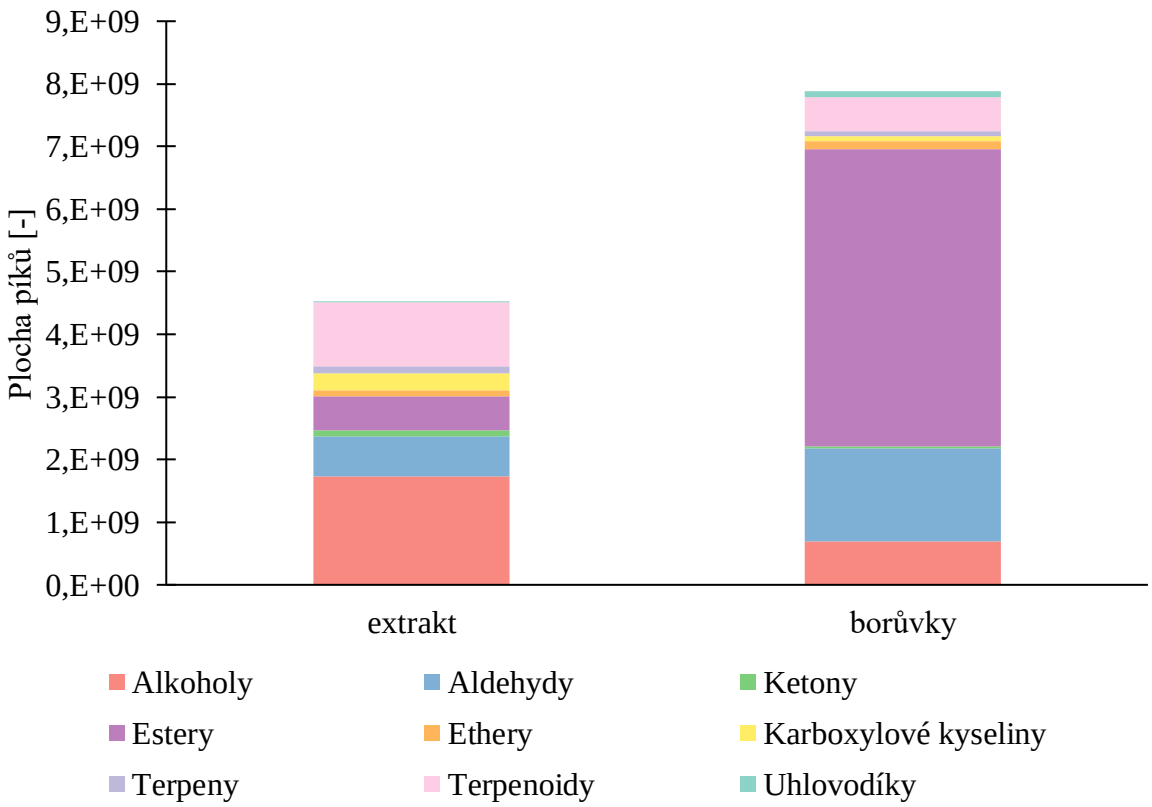
V obou vzorcích bylo nalezeno celkem 51 AAL, z nichž se pouze 21 shodovalo. Tyto shodné AAL v extraktu zaujímaly 72,8 % a v borůvkách 90,0 % celkové plochy píků. Je zřejmé, že procesem extrakce docházelo k určitým změnám ve složení AAL, pravděpodobně účinkem zvýšené teploty došlo k vytvoření některých AAL (sekundární AAL) a na druhou stranu k odtěkání řady AAL přítomných v borůvkách (viz tabulka 23).

Podle provedené rešerše, studie zabývající se obsahem a zastoupením AAL v extraktu, stejně tak v plodech brusnice borůvky v České republice chybí. Srovnání se zahraničními studiemi je poněkud obtížnější, dokazují totiž, že obsah AAL se výrazně mění s geografickými a klimatickými podmínkami. Studie Rohloff a kol. [46] identifikovala v plodech borůvky z Norska 99 AAL. Z 35 identifikovaných AAL v našich vzorcích borůvek se 20 sloučenin s touto studií shodovalo a 15 jich bylo odlišných. Konkrétně se jednalo o (E,E) hexa-2,4-deinal, 4-ethylhex-2-ynal, 2-ethylhexanol, ethyl-dekanoát, menthol, kyselinu 2-methylbutanovou, dioktylether, tridekan-2-on, kyselinu valerovou, methyl-tetradekanoát, nerolidol, kyselinu kaprylovou, 2-fenoxyethanol, piperonal a (E) hexadec-9-enol – tyto sloučeniny byly identifikovány pouze v našich vzorcích; avšak zaujímaly jen 9,0 % celkové plochy píků. Uvedená studie používala pro extrakci AAL z plodů borůvek roztok chloridu sodného, což je další z faktorů, který mohl mít výrazný vliv na rozdílné výsledky. V našich vzorcích borůvek byly identifikovány i AAL pro borůvky typické, konkrétně se jednalo o ethyl-3-methyl-butanoát, (E) hexen-3-al, eukalyptol a linalool [46].



Obrázek 30 Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek ve vzorku extraktu a borůvek

Z grafického znázornění obsahu AAL na obrázku 31 vyplývá, že borůvky obsahovaly téměř dvojnásobné množství AAL. Jak již bylo zmíněno, pravděpodobně v průběhu extrakce docházelo ke ztrátě některých sloučenin, rovněž můžeme vycházet z předpokladu, že ne všechny AAL ze slupky borůvek se podařilo vyextrahovat do roztoku, a tyto AAL byly při přefiltrování extraktu ztraceny. Jak u extraktu, tak u borůvek zaujímaly velké množství AAL alkoholy, estery, aldehydy a terpenoidy, ostatní skupiny látek byly z hlediska obsahu spíše v minoritním zastoupení.



Obrázek 31 Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek ve vzorku extraktu a borůvek

Tabulka 23 Identifikované těkavé látky ve vzorku extraktu a borůvek

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**Extrakt [rel. %]**	**Borůvky [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
Ethyl-2-methyl-butanoát	6,68	1069	-	1,11 ± 0,26	5,61 ± 0,37	Ester	ovocná, víno, jahody, borůvky, jablka
Ethyl-3-methyl-butanoát	7,03	1086	-	10,08 ± 1,58	48,30 ± 2,82	Ester	jablka
Hexanal	7,36	1102	1056-1106	4,34 ± 0,50	6,34 ± 1,00	Aldehyd	ovocná
Eukalyptol	10,64	1228	-	0,56 ± 0,05	0,68 ± 0,05	Terpenoid	kafr
(E) Hex-2-enal	10,99	1241	1196-1238	5,87 ± 1,37	10,66 ± 1,04	Aldehyd	silně ovocná, zelená, zeleninová
Ethyl-hexanoát	11,30	1252	1216-1258	0,81 ± 0,38	-	Ester	guava, jahody
Styren	11,88	1274	1240-1290	-	0,49 ± 0,17	Uhlovodík	sladká, balzamická, pronikavá
Hexanol	14,74	1381	1316-1377	-	0,85 ± 0,26	Alkohol	ovocná, sladká, alkoholová
(Z) Hex-3-enol	15,57	1413	1351-1405	6,55 ± 2,73	4,12 ± 0,44	Alkohol	ovocná, zelená
(E,E) Hexa-2,4-dienal	15,82	1423	1371-1438	-	0,15 ± 0,01	Aldehyd	sladká, zelená, citrusy
(E) Hex-2-enol	16,11	1434	1377-1419	-	0,30 ± 0,06	Alkohol	ovocná, zelená
4-Ehylhex-2-ynal	16,25	1439	-	-	0,96 ± 0,13	Aldehyd	-
Ethyl-2-hydroxy-3-methyl-butanoát	16,60	1453	-	-	2,32 ± 0,26	Ester	ovocná, ananas, jahody, čaj, med
3,7-Dimethyloktan-3-ol	16,71	1457	-	5,57 ± 0,39	-	Alkohol	květinová
Okt-1-en-3-ol	17,19	1476	1411-1465	0,49 ± 0,04	0,54 ± 0,05	Alkohol	zemitá
(E,E) Hepta-2,4-dienal	17,54	1490	1455-1514	-	0,76 ± 0,04	Uhlovodík	tučná, zelená
Dihydromyrcenol	17,68	1494	-	8,65 ± 0,39	-	Terpenoid	svěží, citrusy, květinová

Tabulka 23 Identifikované těkavé látky ve vzorku extraktu a borůvek – pokračování

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**Extrakt [rel. %]**	**Borůvky [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
2-Ethylhexanol	18,23	1517	1452-1513	13,93 ± 1,01	1,05 ± 0,15	Alkohol	olejovitá, sladká, květinová, růže
Benzaldehyd	19,11	1553	1481-1555	1,87 ± 0,24	0,28 ± 0,08	Aldehyd	mandle
Linalool	19,61	1573	1507-1564	10,85 ± 0,42	4,91 ± 1,46	Terpenoid	květinová, dřevitá, levandule, bergamot
Oktanol	19,96	1587	1519-1574	1,47 ± 0,12	0,42 ± 0,08	Alkohol	růže, citrusy, tučná
Ethyl-dekanoát	21,72	1661	1616-1660	-	0,32 ± 0,06	Ester	olejovitá, brandy
Menthol	21,97	1672	1599-1651	1,57 ± 0,04	0,15 ± 0,01	Terpen	peprmint
Nonanol	22,42	1691	1624-1674	0,65 ± 0,05	-	Alkohol	květinová, růže, citrusy
2-Propylheptanol	22,53	1696	-	0,48 ± 0,03	-	Alkohol	-
Ethyl-benzoát	22,53	1696	1640-1706	-	0,20 ± 0,02	Ester	těžká, květinová, ovocná
α-Terpineol	23,31	1730	1659-1724	2,34 ± 0,16	1,05 ± 0,28	Terpenoid	květinová, šeřík
Kyselina 2-methylbutanová	23,55	1741	-	-	0,18 ± 0,01	Karboxylová kyselina	štiplavá, sýrová
Dioktyl ether	24,10	1765	-	-	0,13 ± 0,03	Ether	-
Karvon	24,26	1772	1699-1751	0,21 ± 0,01	-	Terpenoid	mátová, nasládlá
Dekanol	24,73	1793	1725-1782	0,70 ± 0,03	-	Alkohol	sladká, květinová, květy pomerančů
Dihydromyrcen	24,83	1798	-	0,29 ± 0,01	-	Terpen	jasmín
Tridekan-2-on	25,66	1836	1788-1825	0,96 ± 0,14	0,46 ± 0,19	Keton	mléčná, bylinná, kořeněná

Tabulka 23 Identifikované těkavé látky ve vzorku extraktu a borůvek – pokračování

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**Extrakt [rel. %]**	**Borůvky [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
Anetol	25,97	1851	1784-1851	0,31 ± 0,02	-	Ester	ovocná, sladká, med
Estragol	26,16	1860	-	0,7 ± 0,01	-	Ether	anýz, sladká
Geraniol	26,60	1880	1795-1865	0,31 ± 0,01	0,19 ± 0,05	Terpenoid	sladká, růže
6,10-Dimethylundeka-5,9-dien-2-on	26,73	1886	-	1,15 ± 0,08	-	Keton	-
Kyselina valerová	27,62	1929	-	1,03 ± 0,04	0,13 ± 0,03	Karboxylová kyselina	nepříjemná
Fenethylalkohol	28,07	1951	1859-1944	-	0,13 ± 0,01	Alkohol	růže
Dodekanol	29,07	2000	1924-1980	5,19 ± 0,25	-	Alkohol	-
Methyl-tetradekanoát	29,79	2024	-	-	0,33 ± 0,12	Ester	med, kosatec, koňak
Difenylether	30,09	2034	-	0,38 ± 0,02	-	Ether	pelargonie
Isopropyl-myristát	30,25	2039	-	-	3,43 ± 2,41	Ester	bez vůně
(E) Nerolidol	30,44	2046	1995-2055	0,76 ± 0,05	0,93 ± 0,07	Terpen	zelená, citrusová, vosková
Kyselina kaprylová	31,92	2095	2011-2089	1,47 ± 0,15	0,66 ± 0,05	Karboxylová kyselina	slabá, kyselá, ovocná
2-Fenoxyethanol	32,68	2125	-	1,01 ± 0,06	1,56 ± 0,85	Ether	příjemná, aromatická
Cyklotetradekan	33,05	2140	-	0,62 ± 0,04	-	Uhlovodík	-
Kyselina pelargonová	34,20	2187	2110-2196	2,14 ± 0,26	-	Karboxylová kyselina	tučná, kokosový tuk

Tabulka 23 Identifikované těkavé látky ve vzorku extraktu a borůvek – pokračování

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**Extrakt [rel. %]**	**Borůvky [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
Kyselina kaprinová	36,50	2282	2227-2301	1,29 ± 0,20	-	Karboxylová kyselina	žluklá, nepříjemná
(E) Hexadec-9-enol	37,83	2336	-	4,08 ± 0,65	1,49 ± 0,51	Alkohol	ovocná, zelená

** r_t – retenční čas (průměr ze tří měření), RI – retenční index; RI_{lit} je uveden jako rozmezí 90% intervalu spolehlivosti, obsah těkavých látek je uveden jako průměr ze tří měření ± směrodatná odchylka; označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10*

4.3.2 Identifikace těkavých látek ve vzorcích cukrovinek

Ve standardu (STD) bylo podle očekávání identifikováno pouze 14 AAL, tedy nejméně ze všech hodnocených vzorků. AAL zahrnovaly 5 aldehydů, 4 alkoholy, 2 karboxylové kyseliny, 1 ester, 1 ether a 1 terpenoid. Nejvyšší zastoupení zaujímal 2-propylpentanol (21,9 %), (E) hexadec-9-enol (21,3 %) a podle očekávání furfural (17,0 %), jako jeden z hlavních produktů karamelizace cukrů.

Ve vzorku cukrovinky s přídavkem extraktu (EXT) bylo identifikováno celkem 45 AAL, konkrétně 12 alkoholů, 8 esterů, 6 aldehydů, 5 karboxylových kyselin, 5 terpenoidů, 2 ketony, 2 ethery, 2 terpeny, 2 uhlovodíky a 1 heterocyklická sloučenina. Nejvyšší zastoupení zaujímal (E) hexadec-9-enol (15,7 %), linalool (14,2 %), furfural (10,9 %) a 2-ethylhexanol (10,0 %).

Ve vzorku cukrovinky s přídavkem borůvek (BOR) bylo identifikováno celkem 40 AAL, konkrétně 8 alkoholů, 8 esterů, 6 aldehydů, 4 karboxylové kyseliny, 4 terpenoidy, 3 ethery, 2 ketony, 2 terpeny, 2 uhlovodíky a 1 heterocyklická sloučenina. Nejvyšší zastoupení zaujímal linalool (22,7 %), (E) hexadec-9-enol (16,1 %), 2-ethylhexanol (8,4 %), furfural (6,5 %) a hexanal (6,0 %).

Ve vzorku komerční borůvkové cukrovinky (KOM) bylo identifikováno celkem 39 AAL, konkrétně 9 esterů, 6 karboxylových kyselin, 5 alkoholů, 5 terpenů, 5 terpenoidů, 3 aldehydy, 3 ethery, 2 ketony a 1 heterocyklická sloučenina. Nejvyšší zastoupení zaujímala kyselina sorbová (59,1 %), deklarovaná ve složení jako konzervační látka (ve formě sorbanu draselného). Dále cukrovinky obsahovaly kyselinu kaprylovou (22,9 %) a kaprinovou (5,1 %), linalool (3,4 %) a furfural (1,1 %); zbylé AAL byly zastoupeny pouze v desetinách procent a méně.

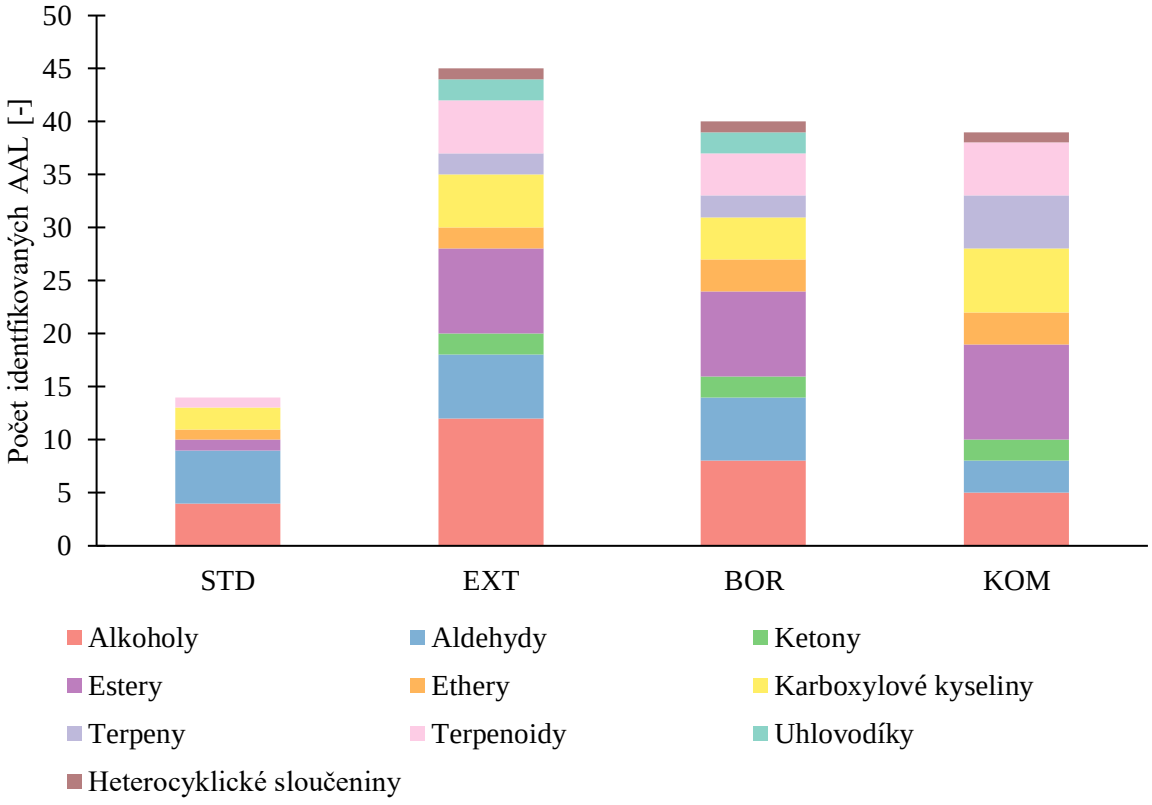
Kromě kyseliny sorbové bylo v komerčních cukrovinkách identifikováno celkem 13 AAL, které se nevyskytovaly v žádných jiných stanovovaných vzorcích. Konkrétně se jednalo o (Z) a (E) β ocimen, okten-3-yl-acetát, 2-ethylhexyl-acetát, methyl-oktanoát, hexyl-butanoát, methyl-dekanoát, lavandulyl-acetát, kyselina 3-methylbutanová, geranyl-acetát, anetol, α isomethylionon a kyselina kaprinová. Řada z těchto sloučenin je typická svým nepříjemným aroma (zemité, voskové, tučné, žluklé a zelené). Tyto látky tedy pravděpodobně stály za nízkou příjemností vůně vzorků, pozorovanou hodnotiteli během senzorické analýzy (viz kapitola 4.2.3). Rovněž přítomnost těchto AAL není v borůvkách typická a potvrzuje tak domněnku, že cukrovinky byly aromatizovány.

Ve všech vzorcích cukrovinek bylo identifikováno celkem 67 AAL, z toho 8 látek se vyskytovalo ve všech vzorcích, konkrétně furfural, benzaldehyd, linalool, kyselina valerová, fenethylalkohol, kyselina kaprylová, 2-fenoxyethanol a (E) hexadec-9-enol. Všechny vyrobené cukrovinky navíc obsahovaly hexanal, ethyl-hexanoát, nonanal, dodekanol a piperonal. Studie Ismarti a kol. [81] potvrzuje přítomnost furfuralu a benzaldehydu ve standardu vepřové želatiny, obdobné té, která byla použita pro přípravu vzorků cukrovinek. Je možné se tedy domnívat, že přítomnost těchto látek je spojena také s použitím želatiny [81].

Vyrobené borůvkové cukrovinky (EXT, BOR) obsahovaly celkem 21 stejných AAL, jako např. ethyl-3-methylbutanoát, hexanal, eukalyptol, (E) hex-2-enal, 2-ethylhexanol, linalool,

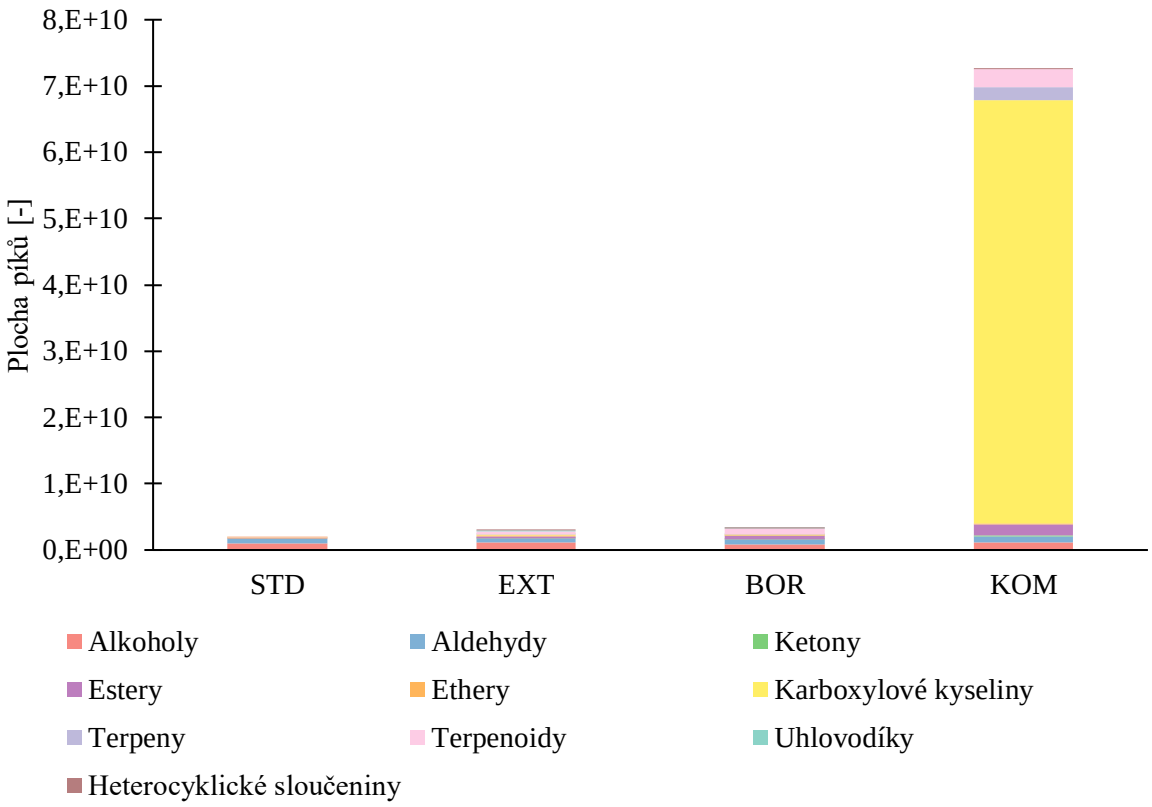
oktanol, menthol, ethyl-benzoát, tridekan-2-on, benzylalkohol, dodekanol, kyselinu kaprylovou, 2-fenoxyethanol, piperonal a (E) hexadec-9-enol; které byly navíc obsaženy v extraktu i borůvkách. Lze se tedy domnívat, že všechny tyto látky přešly z borůvek, případně extraktu do cukrovinek. Tyto AAL dodávaly cukrovinkám ovocné (po jablcích a borůvkách), květinové (po růžích a otočníku), sladké a svěží aroma.

Počet všech identifikovaných AAL v analyzovaných vzorcích je znázorněn graficky na obrázku 32.

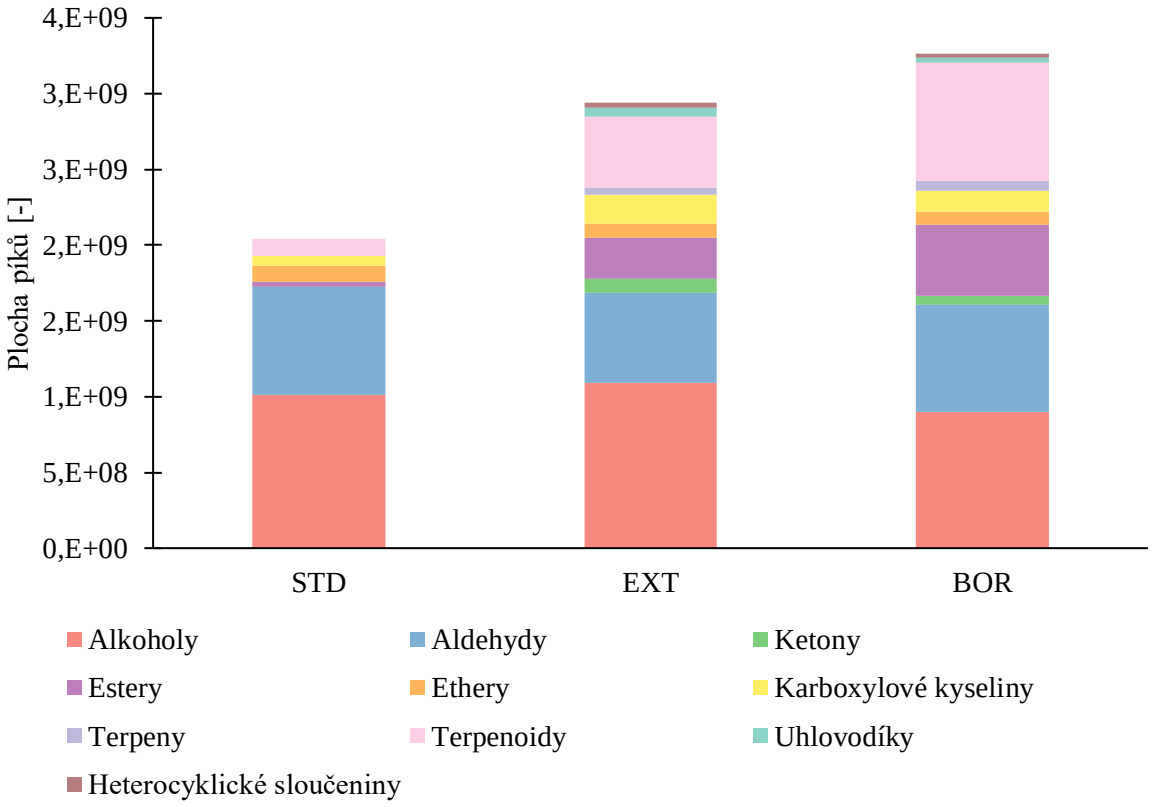


Obrázek 32 Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích cukrovinek

Obsah AAL je znázorněn graficky na obrázku 33. Protože komerční cukrovinky obsahovaly řádově vyšší množství těkavých látek, bylo pro zvýšení přehlednosti znázornění obsahu AAL vyjádřeno i pouze pro vyrobené cukrovinky na obrázku 34. Všechny vyrobené cukrovinky obsahovaly srovnatelné množství alkoholů, které tvořilo největší procento zastoupených aromatických látek. Dále obsahovaly velké množství aldehydů, terpenoidů a esterů.



Obrázek 33 Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích cukrovinek



Obrázek 34 Srovnání obsahu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích vyrobených cukrovinek

Tabulka 24 Identifikované těkavé látky ve vzorcích cukrovinek

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**STD [rel. %]**	**EXT [rel. %]**	**BOR [rel. %]**	**KOM [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
Ethyl-3-methyl-butanoát	7,03	1086	-	-	0,52 ± 0,07	3,32 ± 0,51	-	Ester	jablka
Hexanal	7,36	1102	1056-1106	2,94 ± 0,50	1,29 ± 0,34	5,97 ± 2,85	-	Aldehyd	ovocná
Limonen	10,17	1210	1178-1219	-	0,73 ± 0,17	-	-	Terpen	citrusy, příjemná
Eukalyptol	10,64	1228	-	-	0,26 ± 0,03	0,38 ± 0,07	-	Terpenoid	kafr
2-Methylbutanol	10,83	1235	1182-1223	-	4,77 ± 0,97	0,44 ± 0,10	0,19 ± 0,01	Alkohol	pražená, ovocná, alkoholová
(E) Hex-2-enal	10,99	1241	1196-1238	-	1,39 ± 0,24	4,10 ± 0,98	0,12 ± 0,01	Aldehyd	ovocná, zelená, zeleninová
(Z) β Ocimen	11,24	1250	1211-1251	-	-	-	0,19 ± 0,09	Terpen	sladká, květinová, bylinná
Ethyl-hexanoát	11,30	1252	1216-1258	1,56 ± 0,53	0,44 ± 0,20	0,32 ± 0,02	-	Ester	guava, jahody
(E) β Ocimen	11,73	1268	1232-1267	-	-	-	0,15 ± 0,03	Terpen	sladká, bylinná
Oktan-3-on	11,91	1275	1230-1280	-	-	0,87 ± 0,01	-	Keton	ovocná
5-Methylheptan-3-on	11,92	1275	-	-	0,33 ± 0,03	-	0,03 ± 0,00	Keton	pronikavá
Hexanol	14,74	1381	1316-1377	-	0,33 ± 0,05	0,39 ± 0,16	-	Alkohol	ovocná, sladká, alkoholová
Okten-3-yl-acetát	15,17	1397	-	-	-	-	0,12 ± 0,01	Ester	zelená, zemitá, vosková, nezralé ovoce
Tetradekan	15,28	1402	-	-	-	0,13 ± 0,01	-	Uhlovodík	slabě vosková

Tabulka 24 Identifikované těkavé látky ve vzorcích cukrovinek – pokračování

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**STD [rel. %]**	**EXT [rel. %]**	**BOR [rel. %]**	**KOM [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
2-Ethylhexyl-acetát	15,32	1403	-	-	-	-	0,18 ± 0,02	Ester	zemitá
Methyl-oktanoát	15,50	1410	1375-1410	-	-	-	0,35 ± 0,10	Ester	pomeranč, ovocná, vinná
Nonanal	15,64	1416	1370-1414	6,63 ± 3,83	2,30 ± 0,64	2,45 ± 0,56	-	Aldehyd	pomeranč, růže, květinová, vosková
4-Butoxybuten	16,14	1435	-	-	-	0,38 ± 0,00	-	Ether	-
Hexyl-butanoát	16,16	1436	1395-1433	-	-	-	0,09 ± 0,03	Ester	ovocná, meruňky
Ethyl-oktanoát	16,68	1456	1416-1458	-	2,11 ± 0,49	-	0,57 ± 0,06	Ester	víno, brandy, ovocná, květinová
Furfural	17,57	1491	1432-1490	17,02 ± 1,65	10,87 ± 0,56	6,53 ± 0,65	1,07 ± 0,05	Aldehyd	mandle
2-Propylpentanol	18,25	1518	-	21,87 ± 9,09	-	-	-	Alkohol	-
2-Ethylhexanol	18,23	1517	1452-1513	-	9,97 ± 0,97	8,38 ± 3,37	0,65 ± 0,13	Alkohol	olejovitá, sladká, květinová, růže
Benzaldehyd	19,11	1553	1481-1555	1,84 ± 0,10	1,14 ± 0,03	1,20 ± 0,09	0,16 ± 0,04	Aldehyd	mandle
Linalool	19,61	1573	1507-1564	5,52 ± 4,24	14,18 ± 1,51	22,66 ± 4,78	3,4 ± 0,06	Terpenoid	květinová, dřevitá, levandule, bergamot
Linalylanthranilát	19,76	1579	-	-	-	1,12 ± 0,26	2,00 ± 0,06	Terpen	gardénie
Linalylbutyrát	19,79	1581	-	-	0,22 ± 0,04	-	-	Terpenoid	květinová, bergamot, banány
Oktanol	19,96	1587	1519-1574	-	0,37± 0,06	0,51 ± 0,03	-	Alkohol	růže, citrusy, tučná
Hexadekan	20,43	1607	-	-	0,19 ± 0,00	-	-	Uhlovodík	bez vůně

Tabulka 24 Identifikované těkavé látky ve vzorcích cukrovinek – pokračování

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**STD [rel. %]**	**EXT [rel. %]**	**BOR [rel. %]**	**KOM [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
Kyselina propionová	20,48	1609	-	-	0,77 ± 0,06	1,06 ± 0,08	0,08 ± 0,00	Karboxylová kyselina	štiplavá, žluklá
Methyl-dekanoát	20,68	1617	1581-1624	-	-	-	0,24 ± 0,04	Ester	tučná, olejnatá
Lavandulyl-acetát	20,96	1629	1584-1617	-	-	-	0,12 ± 0,02	Ester	květinová, levandule
4-Terpineol	21,08	1634	-	-	1,03 ± 0,30	1,68 ± 0,46	0,28 ± 0,02	Terpenoid	borovice
Ethyl-dekanoát	21,72	1661	1616-1660	-	0,87 ± 0,27	0,54 ± 0,11	0,20 ± 0,03	Ester	olejovitá, brandy
Menthol	21,97	1672	1599-1651	-	0,79 ± 0,06	1,07 ± 0,01	0,19 ± 0,02	Terpen	peprmint
Nonanol	22,42	1691	1624-1674	-	-	-	-	Alkohol	květinová, růže, citrusy
2-Furanmethanol	22,45	1692	-	-	1,14 ± 0,07	0,96 ± 0,15	0,13 ± 0,00	Heterocyklus	po pálení
α-Terpineol	23,31	1730	1659-1724	-	0,65 ± 0,05	0,74 ± 0,12	0,11 ± 0,01	Terpenoid	květinová, šeřík
Kyselina 3-methylbutanová	23,52	1740	-	-	2,49 ± 0,18	1,75 ± 0,20	0,81 ± 0,06	Karboxylová kyselina	žluklá, sýrová
Nerylacetát	23,77	1751	1693-1740	-	-	-	0,03 ± 0,00	Terpenoid	svěží, citrusy, květinová
Dioktyl ether	24,10	1765	-	-	0,71 ± 0,23	0,66 ± 0,17	0,02 ± 0,00	Ether	-
Geranylacetát	24,46	1781	1728-1772	-	-	-	0,06 ± 0,01	Terpenoid	levandule, sladká, květinová
Dekanol	24,73	1793	1725-1782	-	0,19 ± 0,01	-	-	Alkohol	sladká, květinová, květy pomerančů

Tabulka 24 Identifikované těkavé látky ve vzorcích cukrovinek – pokračování

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**STD [rel. %]**	**EXT [rel. %]**	**BOR [rel. %]**	**KOM [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
Methyl-formiát	25,27	1818	-	-	0,36 ± 0,04	-	-	Ester	příjemná
Methyl-dodekanoát	25,49	1829	-	-	0,70 ± 0,01	3,88 ± 0,39	-	Ester	tučná, víno
Tridekan-2-on	25,66	1836	1788-1825	-	2,84 ± 0,36	1,01 ± 0,14	0,06 ± 0,02	Keton	mléčná, bylinná, kořeněná
Anetol	26,08	1856	1802-1846	-	-	-	0,1 ± 0,00	Ether	anýz
α Isomethylionon	26,65	1883	-	-	-	-	0,07 ± 0,01	Terpen	květinová, fialky
Benzylakohol	27,31	1914	1821-1905	-	0,18 ± 0,00	-	0,05 ± 0,00	Alkohol	slabě aromatická, štiplavá
Kyselina valerová	27,62	1929	-	1,26 ± 0,20	1,14 ± 0,07	0,91 ± 0,13	0,13 ± 0,02	Karboxylová kyselina	nepříjemná
Fenethylalkohol	28,07	1951	1859-1944	1,15 ± 0,15	0,65 ± 0,02	0,47 ± 0,09	0,07 ± 0,02	Alkohol	růže
Dodekanol	29,07	2000	1924-1980	6,39 ± 1,26	4,14 ± 1,69	2,61 ± 0,35	-	Alkohol	-
Methyl-tetradekanoát	29,79	2024	-	-	1,13 ± 0,56	0,95 ± 0,26	-	Ester	med, kosatec, koňak
Isopropyl-myristát	30,25	2039	-	-	3,26 ± 0,61	2,45 ± 0,63	0,41 ± 0,19	Ester	bez vůně
3-Fenylprop-2-ynol	30,67	2056	-	-	0,27 ± 0,08	-	-	Alkohol	-
3-Fenylpropanol	30,81	2058	-	-	0,45 ± 0,16	0,35 ± 0,17	-	Alkohol	květinová, sladká
Kyselina kaprylová	31,92	2095	2011-2089	2,13 ± 0,79	1,27 ± 0,10	0,75 ± 0,00	22,86 ± 2,20	Karboxylová kyselina	slabá, kysele ovocná
2-Fenoxyethanol	32,68	2125	-	5,50 ± 0,81	2,55 ± 0,77	1,86 ± 0,18	0,14 ± 0,04	Ether	příjemná, aromatická

Tabulka 24 Identifikované těkavé látky ve vzorcích cukrovinek – pokračování

Název	**r_t [min]**	**RI**	**RI_{lit}** [78]	**STD [rel. %]**	**EXT [rel. %]**	**BOR [rel. %]**	**KOM [rel. %]**	**Skupina látek**	**Popis vůně - FEMA**
Kyselina sorbová	32,82	2131	-	-	-	-	59,07 ± 1,56	Karboxylová kyselina	bez vůně
Cyklotetradekan	33,05	2140	-	-	1,88 ± 0,11	0,78 ± 0,19	-	Uhlovodík	-
Methyl-palmitát	33,81	2171	2175-2245	-	-	1,44 ± 0,87	-	Ester	bez vůně
Isopropyl-palmitát	34,20	2187	-	-	-	2,41 ± 0,09	-	Ester	bez vůně
Piperonal	34,45	2197	-	7,71 ± 1,39	3,93 ± 0,34	2,64 ± 0,31	-	Aldehyd	květinová, otočník
2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)fenol	36,02	2262	-	-	1,07 ± 0,12	-	-	Alkohol	-
Kyselina kaprinová	36,50	2282	2227-2301	-	-	-	5,08 ± 0,34	Karboxylová kyselina	žluklá, nepříjemná
(E) Hexadec-9-enol	37,83	2336	-	21,31 ± 0,04	15,69 ± 1,74	16,09 ± 1,08	0,59 ± 0,22	Alkohol	ovocná, zelená
Kyselina 2-hydroxyskořicová	40,53	2447	-	-	1,13 ± 0,18	-	-	Karboxylová kyselina	-

** r_t – retenční čas (průměr ze tří měření), RI – retenční index; RI_{lit} je uveden jako rozmezí 90% intervalu spolehlivosti, obsah těkavých látek je uveden jako průměr ze tří měření ± směrodatná odchylka; označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10*

4.4 Stanovení bioaktivních látek

Pro stanovení bioaktivních látek byly zvoleny standardní spektrofotometrické metody. Vzorky cukrovinek byly rozpuštěny ve 40% ethanolu při teplotě 40 °C, extrakt a lisovaná borůvková šťáva se používaly v nezměněné podobě.

4.4.1 Stanovení celkových fenolických látek

Celkový obsah fenolických a polyfenolických látek byl stanoven Folin-Ciocalteuovou spektrofotometrickou metodou (viz kapitola 2.4.2). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 25 a graficky na obrázku 35. Mezi vzorky byly zaznamenány signifikantní rozdíly (ANOVA, $p = 0{,}0000$; $p<\alpha$)

Nejvyšší obsah fenolických látek byl podle očekávání stanoven v borůvkové šťávě, konkrétně 3155 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$ a v extraktu 2841 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$. Extrakt byl připraven z navážky 1000 gramů borůvek na litr vody, je tedy možné předpokládat, že za podmínek extrakce se obsah fenolických látek zvýšil. Tato skutečnost vychází z citlivosti Folin-Ciocalteuovy metody, která je citlivější na volné fenolické látky, které se při vyšší teplotě (50 °C při extrakci) uvolňují ze svých glykosidických forem.

Standardní cukrovinka obsahovala také jistý obsah fenolických látek, 352 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$, což mohlo být způsobeno citlivostí Folin-Ciocalteuova činidla. To není 100% citlivé pouze na fenolické látky, ale i na redukující látky, jako sacharidy a kyselinu citronovou, čímž mohlo dojít k navýšení zdánlivého obsahu fenolických látek.

Z borůvkových cukrovinek vykazoval nejvyšší obsah fenolických látek vzorek s přídavkem borůvek, konkrétně 1735 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$. Komerční cukrovinka a cukrovinka s přídavkem extraktu obsahovaly obdobné množství fenolických látek, a to 1169 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$ a 1141 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$. U cukrovinek s přídavkem borůvek došlo k téměř pětinásobnému nárůstu obsahu fenolických látek oproti standardu, u cukrovinek komerčních a s přídavkem extraktu byl tento nárůst více jak trojnásobný.

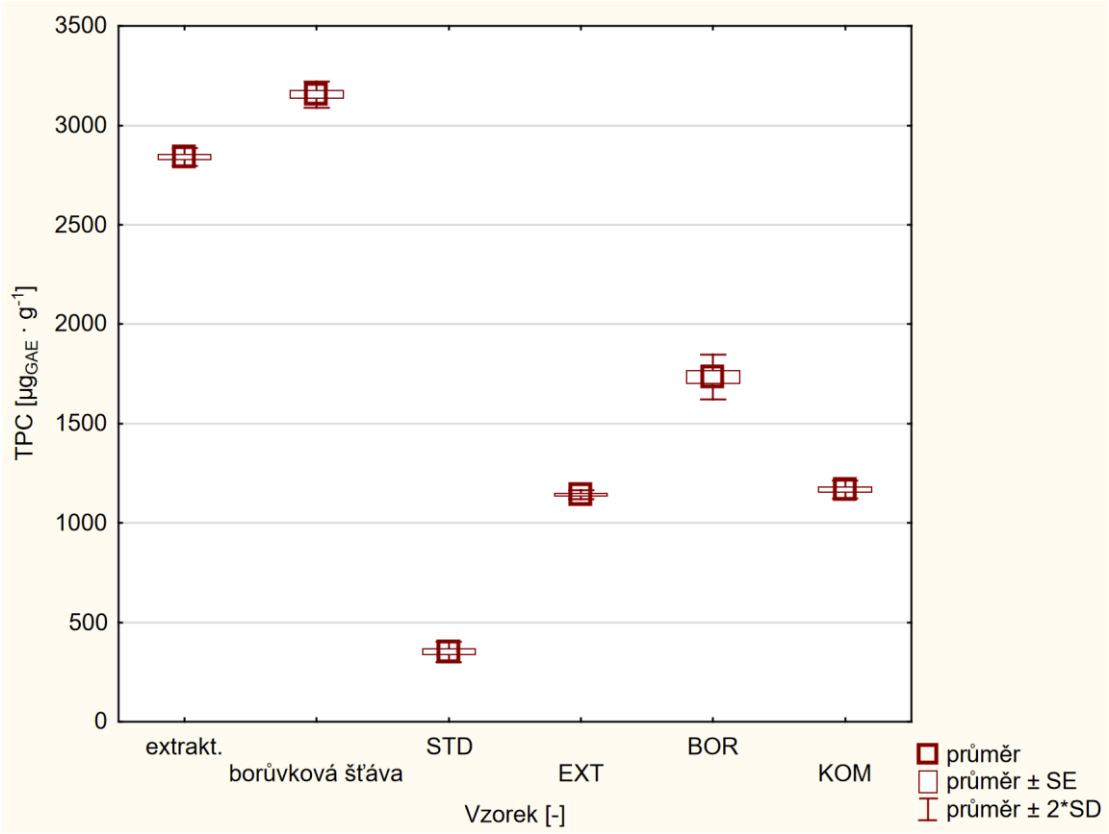
Na celkový obsah fenolických látek v borůvkách mají výrazný vliv geografické a klimatické podmínky prostředí, ze kterého borůvky pochází. TPC borůvek ze Slovinska stanovila studie Mikulcik-Petkovsek a kol. [34] v rozmezí 147–536 $mg_{GAE} \cdot 100\ g^{-1}$ čerstvých plodů (FW), v závislosti na lokalitě. Studie Colak a kol. [32] stanovila obsah TPC v borůvkách z Turecka na 327 $mg_{GAE} \cdot 100\ g^{-1}$ FW a studie Vega a kol. [82] stanovila obsah TPC v borůvkách ze Španělska na 342 $mg_{GAE} \cdot 100\ g^{-1}$ FW. Hodnota TPC stanovená v lisované šťávě z našich borůvek, 315,5 $mg_{GAE} \cdot 100\ g^{-1}$ (mražených plodů), odpovídá hodnotám z výše uvedených studií [32; 34; 35].

Je možné předpokládat, že by TPC po extrakci celých borůvek bylo výrazně vyšší než v samotné lisované šťávě, obsah bioaktivních látek je totiž soustředěn především ve slupce a těsně pod ní [31].

Tabulka 25 Celkový obsah fenolických látek v analyzovaných vzorcích extraktu, borůvkové šťávy a cukrovinek

Vzorek	Označení	Ředění	Aø [-]	TPC [$\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$]*
extrakt	-	10x	0,867 ± 0,007	2841 ± 22[a]
borůvková šťáva	-	20x	0,481 ± 0,005	3155 ± 33[b]
standard	STD	5x	0,215 ± 0,016	352 ± 26[c]
optimalizovaný přídavek extraktu	EXT	5x	0,696 ± 0,007	1141 ± 11[d]
optimalizovaný přídavek borůvek	BOR	5x	1,059 ± 0,034	1735 ± 56[e]
komerční želé cukrovinka	KOM	5x	0,713 ± 0,014	1169 ± 23[d]

** Data bez signifikantních rozdílů jsou označena stejným indexem; (Aø – průměrná hodnota absorbance, TPC – celkový obsah fenolických látek)*



Obrázek 35 Srovnání celkového obsahu fenolických látek v analyzovaných vzorcích extraktu, borůvkové šťávy a cukrovinek

4.4.2 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometricky metodou TEAC s využitím činidla ABTS (viz kapitola 292.4.1.1). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 26 a graficky na obrázku 36. Mezi vzorky byly zaznamenány signifikantní rozdíly (ANOVA, $p = 0{,}0000$; $p<\alpha$).

Výrazně nejvyšší antioxidační aktivitu vykazoval připravený extrakt (10 343 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$), cca dvojnásobnou antioxidační aktivitě borůvkové šťávy (5031 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$).

Dle předpokladu nejnižší antioxidační aktivitu vykazoval vzorek standardní cukrovinky (68 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$). U borůvkových cukrovinek byla antioxidační aktivita výrazně vyšší. Komerční cukrovinky s antioxidační aktivitou 1798 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$ vykazovaly nejvyšší hodnoty, cca dvaceti šestinásobek aktivity standardu. Cukrovinky s přídavkem borůvek vykazovaly šestnáctinásobnou antioxidační aktivitu oproti standardu (1109 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$) a cukrovinky s přídavkem extraktu desetinásobnou (660 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$).

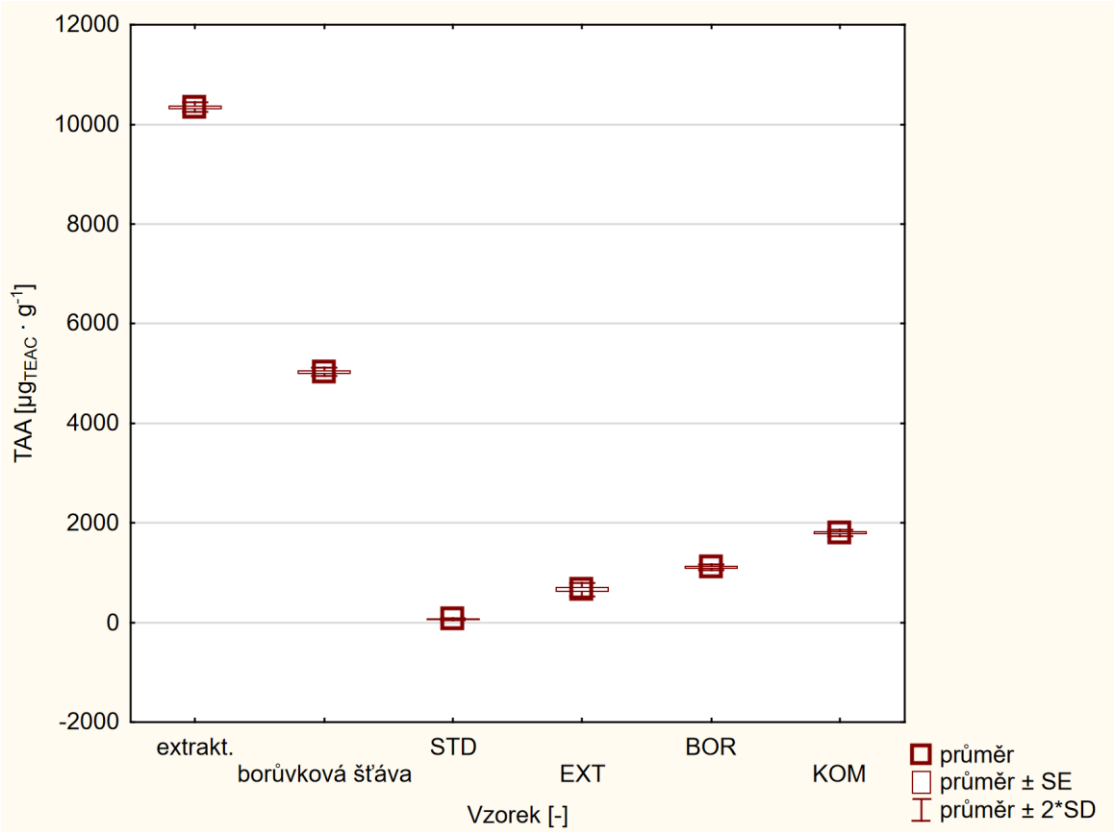
Vysoké hodnoty TAA komerčních cukrovinek byly pravděpodobně způsobeny přítomností sorbanu draselného ve složení, který se, pro své antimikrobiální a antioxidační vlastnosti, používá jako konzervant [83].

Antioxidační aktivita borůvek, z Norska a Finska, stanovená metodou s ABTS ve studii Urbonaviciene a kol. [39] se pohybovala v rozmezí 60,9–106,0 $\mu mol \cdot g^{-1}$, což odpovídá přibližně 15 262–26 564 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$. Jedná se o výrazně vyšší hodnoty než byly stanoveny v našich vzorcích borůvkové šťávy i extraktu. Nižší hodnoty mohly být způsobeny, stejně jako u stanovení TPC, analýzou pouze borůvkové šťávy, bez slupky, která může obsahovat významné množství látek s antioxidačním potenciálem.

Tabulka 26 Antioxidační aktivita analyzovaných vzorků extraktu, borůvkové šťávy a cukrovinek

Vzorek	Označení	Ředění	Aø [-]	% zhášení	TAA [$\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$]*
extrakt	-	20x	0,0057 ± 0,0033	99,2	10 343 ± 48[a]
borůvková šťáva	-	10x	0,0251 ± 0,0057	96,5	5031 ± 42[b]
standard	STD	5x	0,6995 ± 0,0026	2,6	68 ± 10[c]
optimalizovaný přídavek extraktu	EXT	5x	0,5364 ± 0,0181	25,3	660 ± 66[d]
optimalizovaný přídavek borůvek	BOR	5x	0,4227 ± 0,0089	42,6	1109 ± 32[e]
komerční želé cukrovinka	KOM	5x	0,2226 ± 0,0091	69,0	1798 ± 33[f]

** Data bez signifikantních rozdílů jsou označena stejným indexem; (Aø – průměrná hodnota absorbance, TPC – celkový obsah fenolických látek)*



Obrázek 36 Srovnání antioxidační aktivity vzorků extraktu, borůvkové šťávy a cukrovinek

4.4.3 Stanovení celkového obsahu anthokyanů

Celkový obsah anthokyanů byl stanoven spektrofotometrickou pH diferenciální metodou (viz kapitola 2.4.3). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 27 a graficky na obrázku 39. Mezi vzorky byly zaznamenány signifikantní rozdíly (Kruskal-Wallis ANOVA, $p = 0{,}0054$; $p<\alpha$).

Obsah anthokyanů borůvkové šťávy (1322 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$) a extraktu (1214 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$) byl téměř srovnatelný.

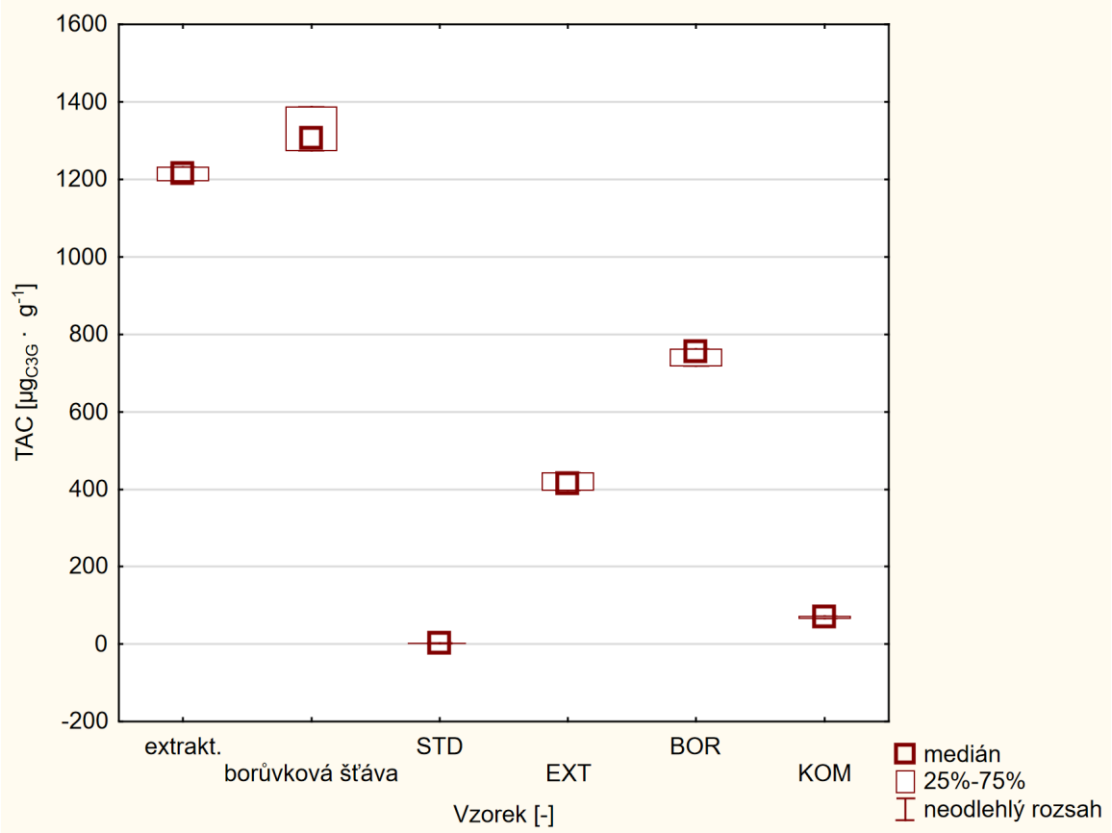
Dle předpokladu obsah anthokyanů ve vzorku standardní cukrovinky byl téměř zanedbatelný (1,7 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$). Z cukrovinek vykazovala nejvyšší TAC cukrovinka s přídavkem borůvek (745 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$), následně s přídavkem extraktu (418 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$) a nejméně anthokyanů obsahovaly komerční cukrovinky (69 $\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$). Tyto výsledky se shodují s výsledky senzorické analýzy, konkrétně hodnocením intenzity barvy, kdy hodnotitelé určili jako vzorek s nejintenzivnější barvou BOR a s nejméně intenzivní barvou STD (viz kapitola 4.2.3).

Celkovým obsahem anthokyanů v borůvkách se zabývala studie Benvenuti a kol. [43], která stanovila metodou vysoce účinné kapalinové chromatografie TAC borůvek z italských Alp na 582–759 mg · 100 g^{-1} FW [43]. Studie Urbonaviciene a kol. [39] stanovila TAC borůvek z Norska a Finska v rozmezí 233–476 mg · 100 g^{-1} FW, rovněž pomocí metody HPLC [39]. Hodnoty TAC analyzovaných vzorků borůvkové šťávy v této práci byly poněkud nižší (132 mg · 100 g^{-1}), což opět mohlo být způsobeno tím, že velká část anthokyanů je soustředěna ve slupce plodů.

Tabulka 27 Celkový obsah anthokyanů ve vzorcích extraktu, borůvkové šťávy a cukrovinek

Vzorek	Označení	Ředění	Aø [-]	TAC [$\mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$]*
extrakt	-	20x	0,606 ± 0,009	1214 ± 17^{a,b}
borůvková šťáva	-	20x	0,660 ± 0,029	1322 ± 58^{a,b}
standard	STD	5x	0,003 ± 0,001	1,7 ± 0,3^{c}
optimalizovaný přídavek extraktu	EXT	10x	0,417 ± 0,023	418 ± 23^{a,b,c}
optimalizovaný přídavek borůvek	BOR	10x	0,744 ± 0,023	745 ± 23^{a,b,c}
komerční želé cukrovinka	KOM	5x	0,138 ± 0,005	69 ± 3^{a,c}

** Data bez signifikantních rozdílů jsou označena stejným indexem; (Aø – průměrná hodnota absorbance, TPC – celkový obsah fenolických látek)*



Obrázek 37 Srovnání celkového obsahu anthokyanů ve vzorcích extraktu, borůvkové šťávy a cukrovinek

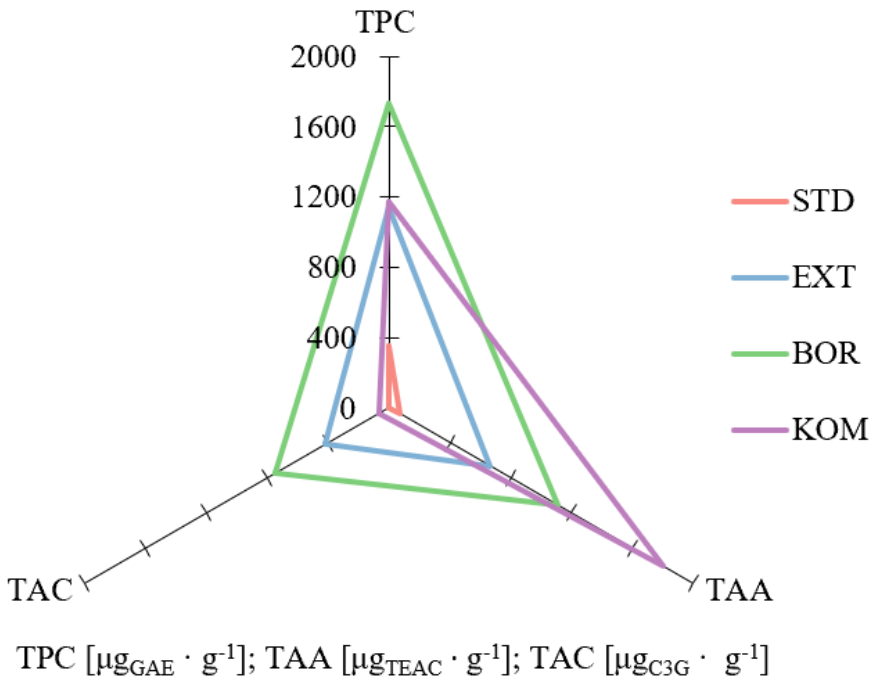
4.4.4 Srovnání cukrovinek z hlediska obsahu bioaktivních látek

Pro lepší přehlednost byly opět všechny parametry uspořádány do souhrnného grafu. Dle předpokladu, vzorek standardu vykazoval nejnižší hodnoty ve všech hodnocených parametrech, tedy v celkovém obsahu fenolických látek, anthokyanů i antioxidační aktivitě. Jak je vidět z obrázku 38, nejvyšší obsah fenolických látek vykazoval vzorek cukrovinek s přídavkem borůvek, což odpovídá předpokladu, protože borůvková šťáva obsahovala výrazně vyšší obsah fenolických látek než z borůvek připravený extrakt. TPC cukrovinky s extraktem a komerční cukrovinky byl srovnatelný.

Obdobně na tom bylo i stanovení celkového obsahu anthokyanů, nejvyšší obsah vykazovaly cukrovinky s borůvkami, nižší s extraktem. Obsah anthokyanů v komerčních cukrovinkách byl oproti vyrobeným cukrovinkám výrazně nižší.

Nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity vykazovaly vzorky komerčních cukrovinek, přestože celkový obsah fenolických látek, které často vykazují antioxidační aktivitu, nebyl nejvyšší. Vysoká TAA mohla být v tomto případě způsobena přítomností sorbanu draselného ve složení komerčních cukrovinek. Z obohacených vyrobených cukrovinek vykazovaly vyšší TAA ty s přídavkem borůvek.

Z hlediska obsahu bioaktivních látek, a tedy i zvýšení nutriční hodnoty cukrovinek, je výhodnější přídavek celých plodů borůvek, než extraktu.



Obrázek 38 Srovnání obsahu bioaktivních látek v cukrovinkách (označení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 10)

5 ZÁVĚR

Hlavním cílem této práce byla optimalizace aplikace extraktu a plodů brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus*) do želatinových želé cukrovinek a jejich charakterizace z hlediska senzorické kvality a nutriční hodnoty. Borůvky byly pro výrobu cukrovinek vybrány pro svůj vysoký obsah bioaktivních látek, především anthokyanů a fenolických látek, příjemné aroma, vyváženou chuť a výraznou barvu.

V rámci optimalizace technologie výroby byla optimalizována příprava extraktu, na základě celkového obsahu fenolických látek, s cílem maximálního zisku těchto sloučenin. Jako optimální podmínky extrakce byly zvoleny: navážka 1000 gramů rozmělněných plodů borůvek na litr vody, teplota 50 °C a doba extrakce 2 hodiny.

Senzorickou analýzou, která sloužila jako nástroj pro optimalizaci přídavku extraktu a borůvek do cukrovinek, bylo jako optimální množství stanoveno 25 % hm. extraktu a 15 % hm. borůvek. Tyto přídavky dávaly cukrovinkám výraznou červenofialovou barvu a příjemnou vyváženou chuť, která byla hodnotiteli nejvíce preferována.

Optimalizované obohacené vzorky cukrovinek (s přídavkem extraktu a borůvek) byly následně porovnány s komerčními borůvkovými cukrovinkami a standardem (cukrovinkou bez přídavku) v senzorické analýze. Hodnotitelé nejvíce preferovali vyrobené obohacené vzorky, mezi kterými nebyly zaznamenány výrazné rozdíly. Nejméně preferovaný byl pak vzorek komerční cukrovinky, který byl pro hodnotitele příliš tuhý a vykazoval nepříjemnou želatinovou chuť.

Následně byly všechny vzorky podrobeny řadě chemických analýz pro stanovení obsahu těkavých látek, celkového obsahu fenolických látek a anthokyanů a stanovení antioxidační aktivity.

Pro stanovení těkavých aromaticky aktivních látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS. V cukrovinkách s přídavkem extraktu bylo identifikováno celkem 45 AAL a s přídavkem borůvek 40 AAL. Největší zastoupení vykazovaly alkoholy, aldehydy a estery. V těchto cukrovinkách bylo identifikováno celkem 21 shodných AAL, např. ethyl-3-methyl-butanoát, linalool, hexanal, eukalyptol, (E) hex-2-enal a 2-ethylhexanol, které byly nalezeny i ve vzorcích borůvek a extraktu. Tyto AAL dodávaly cukrovinkám ovocné (po jablcích a borůvkách), květinové (po růžích a otočníku), sladké a svěží aroma.

Pro stanovení celkových fenolických látek, anthokyanů i antioxidační aktivity byly použity standardní spektrofotometrické metody. Borůvková šťáva i připravený extrakt vykazovaly výrazně vyšší hodnoty, a s jejich přídavkem do cukrovinek došlo k výraznému zvýšení sledovaných parametrů oproti standardu. Lze tedy říci, že podstatná část sledovaných bioaktivních látek zůstala zachována i v cukrovinkách. U vzorků cukrovinek s přídavkem extraktu bylo stanoveno TPC $1141 \pm 11\ \mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$, TAA $660 \pm 66\ \mu g_{TE} \cdot g^{-1}$ a TAC $418 \pm 23\ \mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$. U vzorků cukrovinek s přídavek borůvek bylo stanoveno TPC $1735 \pm 56\ \mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$, TAA $1109 \pm 32\ \mu g_{TE} \cdot g^{-1}$ a TAC $745 \pm 23\ \mu g_{C3G} \cdot g^{-1}$.

Z výsledků této práce vyplývá, že přídavek borůvek a jejich extraktu do cukrovinek výrazně zvyšuje nutriční hodnotu vyrobených cukrovinek a má pozitivní vliv na senzorické vlastnosti.

Ze senzorického hlediska nebyly mezi vzorky obohacených cukrovinek pozorovány významné rozdíly, z hlediska obsahu bioaktivních látek (fenolické látky, antioxidační aktivita, anthokyany a těkavé látky) vykazovaly vyšší hodnoty cukrovinky s borůvkami. Jako lepší se tedy jeví přídavek borůvek, a to i z hlediska zjednodušení výroby, neboť nevyžaduje krok přípravy extraktu. Příprava extraktu navíc produkovala odpad ve formě slupek a dužiny, který nebyl dále využíván.

Vzhledem k současnému trendu bezodpadových technologií by bylo lepší optimalizovat výrobu extraktu tak, aby se minimalizoval vznik odpadu. K tomuto účelu by mohla být použita např. extrakce z lyofilizovaných plodů borůvek, což bude náplní následující disertační práce.

6 SEZNAM LITERÁRNÍCH ZDROJŮ

[1] *Vyhláška č. 76/2003 Sb.: Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony*. online. Sbírka zákonů České republiky, 2003. Dostupné z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76#oddil3. [cit. 2023-07-22].

[2] ČOPÍKOVÁ, Jana. *Technologie čokolády a cukrovinek*. 2. přepracované a aktualizované vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2020. ISBN 978-80-7592-077-5.

[3] *Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1331/2008 ze dne 16. prosince 2008, kterým se stanoví jednotné povolovací řízení pro potravinářské přídatné látky, potravinářské enzymy a látky určené k aromatizaci potravin*. online. 2016. Dostupné z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02008R1333-20231005. [cit. 2023-10-12].

[4] SKOUPIL, Jan. *Suroviny a polotovary pro cukrářskou výrobu*. Brno: Společenstvo cukrářů České republiky, 2005. ISBN 80-239-6061-X.

[5] BABIČKA, Luboš. *Přídatné látky v potravinách*. online. 1. Česká technologická platforma pro potraviny, 2012. ISBN 978-80-905096-3-4. Dostupné z: https://eagri.cz/public/portal/-q341189---5CGZWHKt/pridatne-latky-v-potravinach. [cit. 2023-10-19].

[6] KROGER, Manfred; MEISTER, Kathleen a KAVA, Ruth. Low-calorie Sweeteners and Other Sugar Substitutes: A Review of the Safety Issues. online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2006, roč. 5, č. 2, s. 35-47. ISSN 1541-4337. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00081.x. [cit. 2023-10-12].

[7] TANDEL, Kirtida R. Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. online. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2011, roč. 2, č. 4, s. 236-243. ISSN 0976-500X. Dostupné z: https://doi.org/10.4103/0976-500X.85936. [cit. 2023-10-12].

[8] GUPTA, Megha. Sugar Substitutes: Mechanism, Availability, Current Use and Safety Concerns-An Update. online. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2018, roč. 6, č. 10, s. 1888-1894. ISSN 1857-9655. Dostupné z: https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.336. [cit. 2023-10-12].

[9] DUGAN, Joy; CHIU, Jeff; SHUBROOK, Jay a YOUNG, Clipper. What we know-and don't-about non-nutritive sweeteners. online. *The Journal of family practice*. 2019, roč. 68, č. 6, s. 310-315. Dostupné z: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31381620/. [cit. 2023-10-12].

[10] PHILLIPS, Glyn a WILLIAMS, Peter. *Handbook of Hydrocolloids*. online. 2nd ed. Woodhead Publishing, 2009. ISBN 9781845695873. Dostupné z: https://app.knovel.com/kn/resources/kpHHE00002/toc?cid=kpHHE00002. [cit. 2023-10-19].

[11] BEMILLER, James N. Pectins. online. In: *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*. 3rd ed. Elsevier, 2019, s. 303-312. ISBN 9780128120699. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00015-7. [cit. 2023-07-25].

[12] REINHOLD, Carle a SCHWEIGGERT, Ralf. *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages - Industrial Applications for Improving Food Color*. online. Woodhead Publishing, 2016. ISBN 9780081003923. Dostupné z: https://app.knovel.com/kn/resources/kpHNPFBIA1/toc. [cit. 2023-10-19].

[13] *Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 872/2012 ze dne 1. října 2012 , kterým se přijímá seznam aromatických látek, jak stanoví nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 2232/96, a kterým se tento seznam vkládá do přílohy I nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1334/2008 a kterým se zrušuje nařízení Komise (ES) č. 1565/2000 a rozhodnutí Komise 1999/217/ES Text s významem pro EHP*. online. 2012. Dostupné z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32012R0872. [cit. 2023-10-20].

[14] EDWARDS, William P. *The science of sugar confectionery*. online. RSC paperbacks. Cambridge: Royal Soc. of Chemistry, 2000. ISBN 9781782626091. Dostupné z: https://app.knovel.com/kn/resources/kpSSC00006/toc?cid=kpSSC00006. [cit. 2023-10-18].

[15] DRDÁK, Milan. *Základy potravinárských technológií: spracovanie rastlinných a živočišnych surovín cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. Bratislava: Malé centrum, 1996. ISBN 80-967-0641-1.

[16] CEDEñO-PINOS, Cristina; MARTÍNEZ-TOMÉ, Magdalena; MURCIA, María Antonia; JORDÁN, María José a BAñÓN, Sancho. Assessment of Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) Extract as Antioxidant in Jelly Candies Made with Fructan Fibres and Stevia. online. *Antioxidants*. 2020, roč. 9, č. 12. ISSN 2076-3921. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/antiox9121289. [cit. 2023-10-21].

[17] CEDEñO-PINOS, Cristina; MARTÍNEZ-TOMÉ, Magdalena; JORDÁN, María José a BAñÓN, Sancho. Revalorisation of Sage (Salvia lavandulifolia Vahl) By-Product Extracts as a Source of Polyphenol Antioxidants for Novel Jelly Candies. online. *Antioxidants*. 2023, roč. 12, č. 1. ISSN 2076-3921. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/antiox12010159. [cit. 2023-10-21].

[18] NURHAFSAH, N; LABOKO, A I; GOBEL, D G; FITRIAWATY, ; NOVITASARI, E et al. Effect of red dragon fruit (Hylocereus polyrhizus) peel and pulp on jelly candy chemical composition and acceptance. online. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2023, roč. 1183, č. 1. ISSN 1755-1307. Dostupné z: https://doi.org/10.1088/1755-1315/1183/1/012059. [cit. 2023-10-21].

[19] MIRANDA, Jéssica Soares; COSTA, Beatriz Veltre; DE OLIVEIRA, Isabela Valente; DE LIMA, Diana Clara Nunes; MARTINS, Eliane Maurício Furtado et al. Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and Bacillus coagulans GBI-30 6086.

online. *LWT - Food Science and Technology*. 2020, roč. 126. ISSN 00236438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109275. [cit. 2023-10-21].

[20] GHENDOV-MOSANU, Aliona; CRISTEA, Elena; STURZA, Rodica; NICULAUA, Marius a PATRAS, Antoanela. Synthetic dye's substitution with chokeberry extract in jelly candies. online. *Journal of Food Science and Technology*. 2020, roč. 57, č. 12, s. 4383-4394. ISSN 0022-1155. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s13197-020-04475-6. [cit. 2023-10-21].

[21] MUTLU, Ceren; TONTUL, Sultan Arslan a ERBAş, Mustafa. Production of a minimally processed jelly candy for children using honey instead of sugar. online. *LWT - Food Science and Technology*. 2018, roč. 93, s. 499-505. ISSN 00236438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.064. [cit. 2023-10-21].

[22] RIVERO, Roy; ARCHAINA, Diego; SOSA, Natalia a SCHEBOR, Carolina. Sensory characterization, acceptance, and stability studies on low calories fruit jelly candies. online. *Journal of Food Science and Technology*. 2023, roč. 60, č. 8, s. 2204-2212. ISSN 0022-1155. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s13197-023-05747-7. [cit. 2023-10-21].

[23] TEIXEIRA-LEMOS, Edite; ALMEIDA, Ana Rita; VOUGA, Beatriz; MORAIS, Cátia; CORREIA, Inês et al. Development and characterization of healthy gummy jellies containing natural fruits. online. *Open Agriculture*. 2021, roč. 6, č. 1, s. 466-478. ISSN 2391-9531. Dostupné z: https://doi.org/10.1515/opag-2021-0029. [cit. 2023-10-22].

[24] NURWANTORO, Nurwantoro; HINTONO, Antonius; LEGOWO, Anang Mohammad; MULYANI, Sri; QUNA, Tisqa Rizky et al. The Functional Properties of Rabbit Skin Gelatin Compared to Commercial Gelatin and Its Application in Jelly Candy. online. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. 2022, roč. 17, č. 1, s. 1-9. ISSN 19780303. Dostupné z: https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2022.017.01.1. [cit. 2023-10-21].

[25] VELÍŠEK, Jan a HAJŠLOVÁ, Jana. *Chemie potravin II*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.

[26] GARG, Neelansh; SETHUPATHY, Apuroop; TUWANI, Rudraksh; NK, Rakhi; DOKANIA, Shubham et al. FlavorDB: a database of flavor molecules. online. *Nucleic Acids Research*. 2018, roč. 46, č. 1, s. 1210-1216. ISSN 0305-1048. Dostupné z: https://doi.org/10.1093/nar/gkx957. [cit. 2023-10-23].

[27] ZHANG, Yachen a BARRINGER, Sheryl. Effect of hydrocolloids, sugar, and citric acid on strawberry volatiles in a gummy candy. online. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018, roč. 42, č. 1. ISSN 01458892. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/jfpp.13327. [cit. 2023-11-02].

[28] PIZZONI, Daniel; COMPAGNONE, Dario; DI NATALE, Corrado; D'ALESSANDRO, N. a PITTIA, Paola. Evaluation of aroma release of gummy candies added with strawberry flavours by gas-chromatography/mass-spectrometry and gas sensors arrays. online. *Journal*

of Food Engineering. 2015, roč. 167, s. 77-86. ISSN 02608774. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.03.003. [cit. 2023-11-02].

[29] BALLEN, Sandra Cristina; GRABOSKI, Adriana Marcia; MANZOLI, Alexandra; STEFFENS, Juliana a STEFFENS, Clarice. Monitoring Aroma Release in Gummy Candies During The Storage Using Electronic Nose. online. *Food Analytical Methods*. 2020, roč. 13, č. 1, s. 3-12. ISSN 1936-9751. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s12161-019-01496-6. [cit. 2023-11-02].

[30] KAPP, Karmen; ORAV, Anne; ROASTO, Mati; RAAL, Ain; PÜSSA, Tõnu et al. Composition and Antibacterial Effect of Mint Flavorings in Candies and Food Supplements. online. *Planta Medica*. 2020, roč. 86, č. 15, s. 1089-1096. ISSN 0032-0943. Dostupné z: https://doi.org/10.1055/a-1158-1699. [cit. 2023-11-02].

[31] BARRECA, Davide; LAGANà, Giuseppina; BELLOCCO, Ersilia a TROMBETTA, Domenico; LAGANà, Giuseppina (ed.). Chapter 3.6 - Bilberry (Vaccinium myrtyllus L.). online. In: NABAVI, Seyed Mohammad a SILVA, Ana Sanches. *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Academic Press, 2018, s. 159-163. ISBN 9780128125632. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128124918000229. [cit. 2023-07-10].

[32] COLAK, Aysen Melda; KUPE, Muhammed; BOZHUYUK, Mehmet Ramazan; ERCISLI, Sezai a GUNDOGDU, Muttalip. Identification of some Fruit Characteristics in Wild Bilberry (Vaccinium myrtillus L.) Accessions from Eastern Anatolia. online. *Gesunde Pflanzen*. 2018, roč. 70, č. 1, s. 31-38. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s10343-017-0410-z. [cit. 2023-10-11].

[33] KRISHNA, Priti; PANDEY, Gareema; THOMAS, Richard a PARKS, Sophie. Improving Blueberry Fruit Nutritional Quality through Physiological and Genetic Interventions: A Review of Current Research and Future Directions. online. *Antioxidants*. 2023, roč. 12, č. 4. ISSN 2076-3921. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/antiox12040810. [cit. 2023-10-11].

[34] MIKULIC-PETKOVSEK, Maja; SCHMITZER, Valentina; SLATNAR, Ana; STAMPAR, Franci a VEBERIC, Robert. A comparison of fruit quality parameters of wild bilberry (Vaccinium myrtillus L.) growing at different locations. online. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015, roč. 95, č. 4, s. 776-785. ISSN 00225142. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/jsfa.6897. [cit. 2023-07-10].

[35] *Centrum pro databázi složení potravin: Databáze složení potravin ČR*. online. Verze 8.20. Praha: Ústav zemědělské ekonomiky a informací, 2020. Dostupné z: https://www.nutridatabaze.cz/. [cit. 2023-10-24].

[36] ZORATTI, Laura; KLEMETTILÄ, Hannele a JAAKOLA, Laura. Chapter 4 - Bilberry (Vaccinium myrtillus L.) Ecotypes. online. In: SIMMONDS, M.S.J. a PREEDY, V.R. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. Academic Press, 2016, s. 83-99. ISBN 978-0-

12-408117-8. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00004-0. [cit. 2023-07-10].

[37] KLAVINS, Linards; MEZULIS, Marcis; NIKOLAJEVA, Vizma a KLAVINS, Maris. Composition, sun protective and antimicrobial activity of lipophilic bilberry (Vaccinium myrtillus L.) and lingonberry (Vaccinium vitis-idaea L.) extract fractions. online. *LWT*. 2021, roč. 138, s. 110784. ISSN 00236438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110784. [cit. 2023-10-11].

[38] MUSILOVÁ, Janette; FRANKOVÁ, Hana; LIDIKOVÁ, Judita; VOLLMANNOVÁ, Alena; BOJŇANSKÁ, Tatiana et al. The content of bioactive substances and their antioxidant effects in the European blueberry (Vaccinium myrtillus L.) influenced by different ways of their processing. online. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2022, roč. 46, č. 6. ISSN 0145-8892. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/jfpp.16549. [cit. 2023-07-10].

[39] URBONAVICIENE, Dalia; BOBINAITE, Ramune; VISKELIS, Pranas; BOBINAS, Ceslovas; PETRUSKEVICIUS, Aistis et al. Geographic Variability of Biologically Active Compounds, Antioxidant Activity and Physico-Chemical Properties in Wild Bilberries (Vaccinium myrtillus L.). online. *Antioxidants*. 2022, roč. 11, č. 3, s. 588. ISSN 2076-3921. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/antiox11030588. [cit. 2023-07-10].

[40] BAYAZID, Al Borhan; CHUN, Eun Mi; AL MIJAN, Mohammad; PARK, Seo Hyun; MOON, Sung-Kwon et al. Anthocyanins profiling of bilberry (Vaccinium myrtillus L.) extract that elucidates antioxidant and anti-inflammatory effects. online. *Food and Agricultural Immunology*. 2021, roč. 32, č. 1, s. 713-726. ISSN 0954-0105. Dostupné z: https://doi.org/10.1080/09540105.2021.1986471. [cit. 2023-07-10].

[41] LÄTTI, Anja K.; RIIHINEN, Kaisu R. a KAINULAINEN, Pirjo S. Analysis of Anthocyanin Variation in Wild Populations of Bilberry (Vaccinium myrtillus L.) in Finland. online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, roč. 56, č. 1, s. 190-196. ISSN 0021-8561. Dostupné z: https://doi.org/10.1021/jf072857m. [cit. 2023-10-11].

[42] PIRES, Tânia C. S. P.; DIAS, Maria Inês; CAROCHO, Márcio; BARREIRA, João C. M.; SANTOS-BUELGA, Celestino et al. Extracts from Vaccinium myrtillus L. fruits as a source of natural colorants: chemical characterization and incorporation in yogurts. online. *Food & Function*. 2020, roč. 11, č. 4, s. 3227-3234. ISSN 2042-6496. Dostupné z: https://doi.org/10.1039/C9FO02890K. [cit. 2023-10-11].

[43] BENVENUTI, Stefania; BRIGHENTI, Virginia a PELLATI, Federica. High-performance liquid chromatography for the analytical characterization of anthocyanins in Vaccinium myrtillus L. (bilberry) fruit and food products. online. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018, roč. 410, č. 15, s. 3559-3571. ISSN 1618-2642. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s00216-018-0915-z. [cit. 2023-07-10].

[44] SATER, Haley M.; BIZZIO, Lorenzo N.; TIEMAN, Denise M. a MUñOZ, Patricio D. A Review of the Fruit Volatiles Found in Blueberry and Other Vaccinium Species. online.

Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2020, roč. 68, č. 21, s. 5777-5786. ISSN 0021-8561. Dostupné z: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01445. [cit. 2023-07-10].

[45] HIRVI, Timo a HONKANEN, Erkki. The aroma of blueberries. online. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1983, roč. 34, č. 9, s. 992-996. ISSN 0022-5142. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/jsfa.2740340916. [cit. 2023-10-25].

[46] ROHLOFF, Jens; NESTBY, Rolf; NES, Arnfinn a MARTINUSSEN, Inger. Volatile profiles of European blueberry: Few major players, but complex aroma patterns. online. *Latvian Journal of Agronomy*. 2009, č. 12, s. 98-103. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/220005052_Volatile_profiles_of_European_blueberry_Few_major_players_but_complex_aroma_patterns. [cit. 2023-10-10].

[47] POLTRONIERI, Palmiro.; DE DOMENICO, S.; BONSEGNA, Stefania. a SANTINO, Angelo. Oxylipins and Green Leaf Volatiles: Application of Enzymes From Plant Origin to Produce Flavors and Antifungal Aldehydes. online. In: *Enzymes in Food Biotechnology*. Elsevier, 2019, s. 551-567. ISBN 9780128132807. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00032-3. [cit. 2023-10-25].

[48] ANCILLOTTI, Claudia; CIOFI, Lorenzo; PUCCI, Daniele; SAGONA, Eva; GIORDANI, Edgardo et al. Polyphenolic profiles and antioxidant and antiradical activity of Italian berries from Vaccinium myrtillus L. and Vaccinium uliginosum L. subsp. gaultherioides (Bigelow) S.B. Young. online. *Food Chemistry*. 2016, roč. 204, s. 176-184. ISSN 03088146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.106. [cit. 2023-10-11].

[49] KOWALSKA, Katarzyna. Lingonberry (Vaccinium vitis-idaea L.) Fruit as a Source of Bioactive Compounds with Health-Promoting Effects—A Review. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, roč. 22, č. 10. ISSN 1422-0067. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/ijms22105126. [cit. 2023-10-31].

[50] JURIKOVA, Tunde; SKROVANKOVA, Sona; MLCEK, Jiri; BALLA, Stefan a SNOPEK, Lukas. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, and Biological Effects of European Cranberry (Vaccinium oxycoccos). online. *Molecules*. 2019, roč. 24, č. 1. ISSN 1420-3049. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/molecules24010024. [cit. 2023-10-31].

[51] *INaturalist*. online. 2008. Dostupné z: https://www.inaturalist.org/. [cit. 2023-11-01].

[52] MUNTEANU, Irina G. a APETREI, Constantin. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, roč. 22, č. 7. ISSN 1422-0067. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/ijms22073380. [cit. 2023-11-07].

[53] GULCIN, İlhami. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. online. *Archives of Toxicology*. 2020, roč. 94, č. 3, s. 651-715. ISSN 0340-5761. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3. [cit. 2023-11-07].

[54] HARNLY, James. Antioxidant methods. online. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2017, roč. 64, s. 145-146. ISSN 08891575. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.08.011. [cit. 2023-11-07].

[55] AMORATI, Riccardo a VALGIMIGLI, Luca. Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. online. *Free Radical Research*. 2015, roč. 49, č. 5, s. 633-649. ISSN 1071-5762. Dostupné z: https://doi.org/10.3109/10715762.2014.996146. [cit. 2023-11-07].

[56] LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. online. In: APAK, Resat; CAPANOGLU, Esra a SHAHIDI, Fereidoon (ed.). *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications*. John Wiley & Sons Ltd., 2018, s. 107-115. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6. [cit. 2023-11-11].

[57] DELGADO, Amélia Martins; ISSAOUI, Manel a CHAMMEM, Nadia. Analysis of Main and Healthy Phenolic Compounds in Foods. online. *Journal of AOAC International*. 2019, roč. 102, č. 5, s. 1356-1364. ISSN 1060-3271. Dostupné z: https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0128. [cit. 2023-11-11].

[58] SÁNCHEZ-RANGEL, Juan Carlos; BENAVIDES, Jorge; HEREDIA, J. Basilio; CISNEROS-ZEVALLOS, Luis a JACOBO-VELÁZQUEZ, Daniel A. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. online. *Analytical Methods*. 2013, roč. 5, č. 21. ISSN 1759-9660. Dostupné z: https://doi.org/10.1039/c3ay41125g. [cit. 2023-11-11].

[59] ALAPPAT, Bindhu a ALAPPAT, Jayaraj. Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. online. *Molecules*. 2020, roč. 25, č. 23. ISSN 1420-3049. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/molecules25235500. [cit. 2023-11-11].

[60] TENG, Zhaojun; JIANG, Xinwei; HE, Fatao a BAI, Weibin. Qualitative and Quantitative Methods to Evaluate Anthocyanins. online. *EFood*. 2020, roč. 1, č. 5, s. 339-346. ISSN 2666-3066. Dostupné z: https://doi.org/10.2991/efood.k.200909.001. [cit. 2023-11-11].

[61] PAWLISZYN, Janusz. Solid Phase Microextraction. online. In: ROUSEFF, Russell L. a CADWALLADER, Keith R. (ed.). *Headspace Analysis of Foods and Flavors: Theory and Practice*. Springer New York, 2001, s. 73-87. ISBN 978-1-4615-1247-9. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1247-9_6. [cit. 2023-11-12].

[62] PAWLISZYN, Janusz. Theory of Solid-Phase Microextraction. online. In: *Handbook of Solid Phase Microextraction*. Chemistry 2011. Waterloo (Ontario): Elsevier, 2012, s. 13-59. ISBN 978-0-12-416017-0. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416017-0.00002-4. [cit. 2023-11-12].

[63] LEHOTAY, Steven J a HAJŠLOVÁ, Jana. Application of gas chromatography in food analysis. online. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2002, roč. 21, č. 910, s. 686-697.

ISSN 01659936. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00805-1. [cit. 2023-11-13].

[64] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.

[65] MEDHE, Sharad. Mass Spectrometry: Detectors Review. online. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*. 2018, roč. 3, č. 4, s. 51-58. Dostupné z: https://doi.org/10.11648/j.cbe.20180304.11. [cit. 2023-11-13].

[66] ZAIKIN, Vladimir. Chromatography-mass spectrometry. online. *Journal of Analytical Chemistry*. 2011, roč. 66, č. 11, s. 1090-1094. ISSN 1061-9348. Dostupné z: https://doi.org/10.1134/S1061934811110177. [cit. 2023-11-13].

[67] PIGGOTT, John R.; SIMPSON, Stephanie J. a WILLIAMS, Simon A. R. Sensory analysis. online. 1998, roč. 33, č. 1, s. 7-12. ISSN 0950-5423. Dostupné z: https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1998.00154.x. [cit. 2023-11-16].

[68] JEŽEK, František. *Senzorická analýza potravin: návody na cvičení*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-724-4.

[69] BUŇKA, František; HRABĚ, Jan a VOSPĚL, Bohumír. *Senzorická analýza potravin I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. ISBN 978-80-7318-628-9.

[70] JAROŠOVÁ, Alžběta. *Senzorické hodnocení potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2001. ISBN 80-715-7539-9.

[71] POKORNÝ, Jan; PANOVSKÁ, Zdeňka a VALENTOVÁ, Helena. *Sensorická analýza potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-708-0329-0.

[72] TREMLOVÁ, Bohuslava; OŠŤÁDALOVÁ, Martina a TAUFEROVÁ, Alexandra. *Hygiena a technologie potravin rostlinného původu: Hygiena a technologie cukru, cukrovinek, čaje a kávy, Návody do cvičení*. Fakulta veterinární hygieny a ekologie: Ústav vegetabilních potravin, 2012. ISBN 978-80-7305-636-0.

[73] RIVERO, Roy; ARCHAINA, Diego; SOSA, Natalia a SCHEBOR, Carolina. Development and characterization of two gelatin candies with alternative sweeteners and fruit bioactive compounds. online. *LWT*. 2021, roč. 141. ISSN 00236438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110894. [cit. 2023-11-25].

[74] CANO-LAMADRID, Marina; CALÍN-SÁNCHEZ, Ángel; CLEMENTE-VILLALBA, Jesús; HERNÁNDEZ, Francisca; CARBONELL-BARRACHINA, Ángel A. et al. Quality Parameters and Consumer Acceptance of Jelly Candies Based on Pomegranate Juice "Mollar de Elche". online. *Foods*. 2020, roč. 9, č. 4. ISSN 2304-8158. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/foods9040516. [cit. 2023-11-25].

[75] ARCHAINA, Diego; SOSA, Natalia; RIVERO, Roy a SCHEBOR, Carolina. Freeze-dried candies from blackcurrant (Ribes nigrum L.) and yoghurt. Physicochemical and sensorial

characterization. online. *LWT*. 2019, roč. 100, s. 444-449. ISSN 00236438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.049. [cit. 2023-11-25].

[76] ARCHAINA, Diego; PIENIAZEK, Facundo; MESSINA, Valeria; SALVATORI, Daniela a SCHEBOR, Carolina. Different methods for textural evaluation of freeze-dried candies during storage. online. *Journal of Texture Studies*. 2023, roč. 54, č. 4, s. 550-559. ISSN 0022-4901. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/jtxs.12751. [cit. 2023-11-25].

[77] RYCHETSKÝ, Matěj. *Aplikace rostlinného extraktu do nečokoládových cukrovinek*. Diplomová práce, vedoucí Eva Vítová. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií, 2021. Dostupné také z: https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131319.

[78] BABUSHOK, V. I.; LINSTROM, P. J. a ZENKEVICH, I. G. Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. online. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 2011, roč. 40, č. 4. ISSN 0047-2689. Dostupné z: https://doi.org/10.1063/1.3653552. [cit. 2024-02-04].

[79] NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. *PubChem*. online. 2004. Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/. [cit. 2024-01-19].

[80] *Food and Agriculture Organization of the United Nations - Food safety and quality*. online. Dostupné z: https://www.fao.org/home/en/. [cit. 2024-02-19].

[81] ISMARTI, Ismarti; HANDOKO, Dody Dwi; TRIYANA, Kuwat; SALLEH, Hamzah M.; FADZILLAH, Nurrulhidayah A. et al. Study on Volatile Compounds of Gelatine and The Maillard Reaction Products from Different Species Using SPME-GCMS. online. *Science and Technology Indonesia*. 2022, roč. 7, č. 2, s. 132-139. ISSN 25804405. Dostupné z: https://doi.org/10.26554/sti.2022.7.2.132-139. [cit. 2024-02-20].

[82] VEGA, Erika N.; GARCÍA-HERRERA, Patricia; CIUDAD-MULERO, María; DIAS, Mª Ines; MATALLANA-GONZÁLEZ, Mª Cruz et al. Wild sweet cherry, strawberry and bilberry as underestimated sources of natural colorants and bioactive compounds with functional properties. online. *Food Chemistry*. 2023, roč. 414. ISSN 03088146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135669. [cit. 2023-07-10].

[83] POERSCHKE, R. E. a CUNNINGHAM, F. E. Influence of potassium sorbate and selected antioxidants on growth of Salmonella senftenberg. online. *Journal of Food Quality*. 1985, roč. 8, č. 2-3, s. 113-129. ISSN 0146-9428. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1985.tb00838.x. [cit. 2024-03-24].

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAL	Aromaticky aktivní látky
ABAP	2,2' azobis(2-amidinpropan)dihydrochlorid
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzthyazolin-6-sulfonová kyselina)
ANOVA	Analýza rozptylu (Analysis of Variance)
C3G	Ekvivalent kyanidin 3-glukosidu
CUPRAC	Cupric Antioxidant Capacity
ČSN	Česká technická norma
DE	Dextrosový ekvivalent
DI-SPME	Direct Immersion SPME
DPPH	(2,2-di(4-tert-oktylfenyl)-1-pikrylhydrazyl)
ECD	Detektor elektronového záchytu (Electron Capture Detector)
ES	Evropský parlament a rada
EU	Evropská unie
F-C	Folin-Ciocalteuho činidlo
FCH	Fakulta chemická
FID	Plamenově ionizační detektor (Flame Ionization Detector)
FRAP	Ferric Reduction of Antioxidant Power
GAE	Ekvivalent kyseliny gallové (Gallic Acid Equivalent)
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
HAT	Hydrogen Atom Transfer
HM	Vysoce esterifikovaný (High Methoxyl)
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie (High-performance Liquid Chromatography)
HS-SPME	Headspace Solid Phase Microextraction
HS-SPME-GC-MS	Headspace mikroextrakce pevnou fází ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci (International Organization for Standardization)
LC-MS	Kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
LM	Nízko esterifikovaný (Low Methoxyl)

m/z	Poměr hmotnosti a náboje
MS	Hmotnostní spektrometr (Mass Spectrometer); hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry)
NMR	Nukleární magnetická rezonance
ORAC	Oxygen Radical Absorption Capacity
PDSM	Polydimethylsiloxan
r	Korelační koeficient
Sb.	Sbírka
SD	Směrodatná odchylka (Standard Deviation)
SE	Střední chyba průměru (Standard Error)
SET	Single Electron Transfer
SPME	Mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Microextraction)
TAA	Celková antioxidační aktivita (Total Antioxidant Activity)
TAC	Celkový obsah anthokyanů (Total Anthocyan Content)
TCD	Tepelně-vodivostní detektor (Thermal Conductivity Detector)
TE	Ekvivalent Troloxu (Trolox Equivalent)
TEAC	Ekvivalent antioxidační aktivity troloxu (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
TPC	Celkový obsah fenolických látek (Total Phenolic Content)
TOF	Analyzátor doby letu (Time of Flight)
TRAP	Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parametr
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektrometrie
VUT	Vysoké učení technické v Brně

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 Formulář pro senzorickou analýzu – Optimalizace přídavku extraktu borůvek a borůvek do želé cukrovinek

Příloha 2 Formulář pro senzorickou analýzu – Hodnocení optimalizovaných vzorků a komerčního vzorku

Příloha 3 Chromatogram těkavých látek identifikovaných v plodech borůvek; identifikace sloučenin viz tabulka 23

Příloha 4 Chromatogram těkavých látek identifikovaných v extraktu borůvek; identifikace sloučenin viz tabulka 23

Příloha 5 Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku standardní (neobohacené) cukrovinky; identifikace sloučenin viz tabulka 24

Příloha 6 Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku cukrovinky s optimálním přídavkem extraktu (25 % hm.); identifikace sloučenin viz tabulka 24

Příloha 7 Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku cukrovinky s optimálním přídavkem borůvek (15 % hm.); identifikace sloučenin viz tabulka 24

Příloha 8 Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku komerční borůvkové cukrovinky; identifikace sloučenin viz tabulka 24

9 PŘÍLOHY

Příloha 1: Formulář pro senzorickou analýzu – Optimalizace přídavku extraktu borůvek a borůvek do želé cukrovinek

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK

Vážení hodnotitelé, zhodnoťte, prosím, předložené vzorky želé cukrovinek.

Datum: kuřák/nekuřák

Čas: žena/muž

Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?

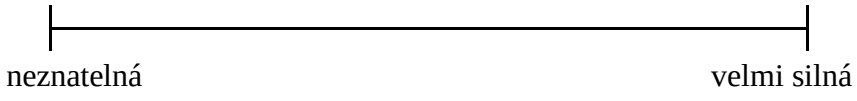
- želé cukrovinky mám velmi rád/a
- želé cukrovinky nemám příliš rád/a
- želé cukrovinky nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je

Zhodnoťte předložené vzorky v následujících znacích podle uvedených instrukcí, použijte uvedené stupnice.

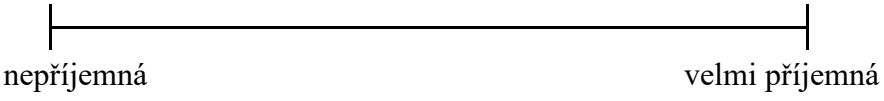
SADA A

1. Barva

Intenzita barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu barvy vzorků

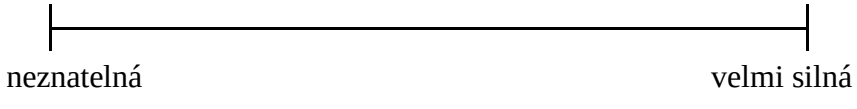


Příjemnost barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost barvy vzorků

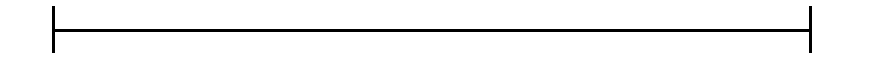


2. Vůně

Intenzita vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu vůně vzorků



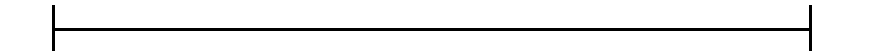
Příjemnost vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost vůně vzorků



nepříjemná velmi příjemná

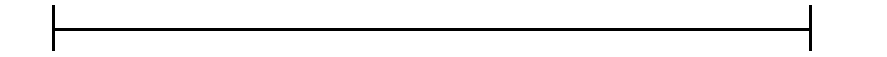
3. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

Intenzita chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu chutí vzorků



neznatelná velmi silná

Příjemnost chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost chutí vzorků

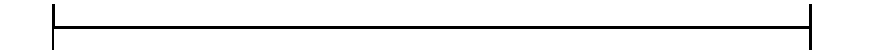


nepříjemná velmi příjemná

4. Profilový test vybraných chutí

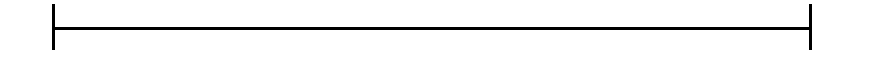
Posuďte, do jaké míry uvedené dílčí chutě vytvářejí celkový dojem chuti. Použijte grafickou stupnici.

Sladká:



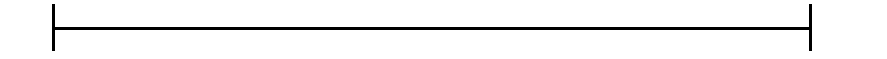
neznatelná velmi silná

Kyselá:



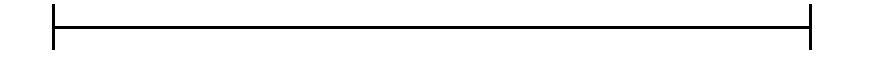
neznatelná velmi silná

Ovocná:



neznatelná velmi silná

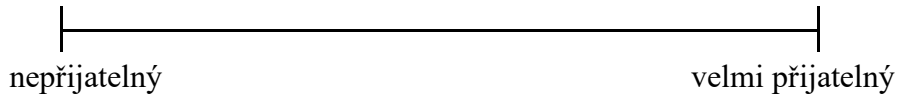
Jiná (doplňte):



neznatelná velmi silná

5. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

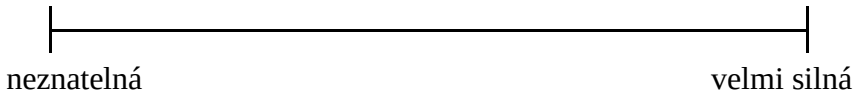
Pomocí uvedené grafické stupnice určete celkovou přijatelnost vzorků



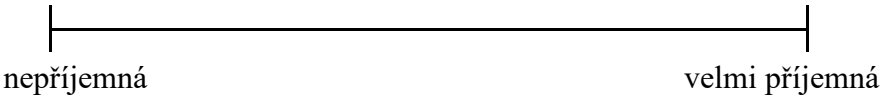
SADA B

1. Barva

Intenzita barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu barvy vzorků

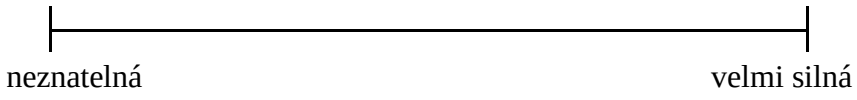


Příjemnost barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost barvy vzorků

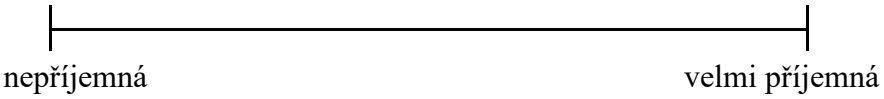


2. Vůně

Intenzita vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu vůně vzorků

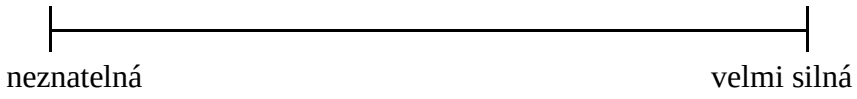


Příjemnost vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost vůně vzorků

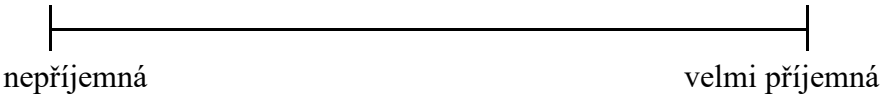


3. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

Intenzita chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu chutí vzorků



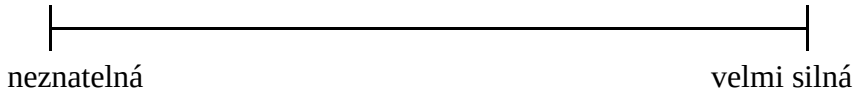
Příjemnost chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost chutí vzorků



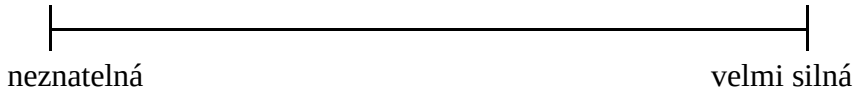
4. Profilový test vybraných chutí

Posuďte, do jaké míry uvedené dílčí chutě vytvářejí celkový dojem chuti. Použijte grafickou stupnici.

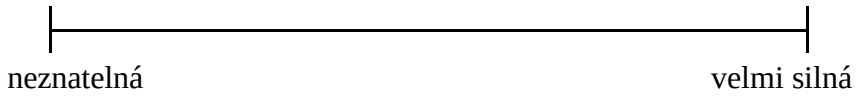
Sladká:



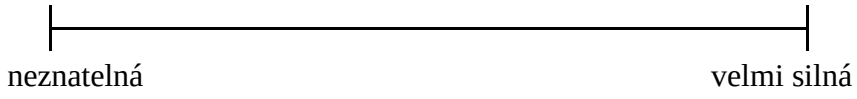
Kyselá:



Ovocná:

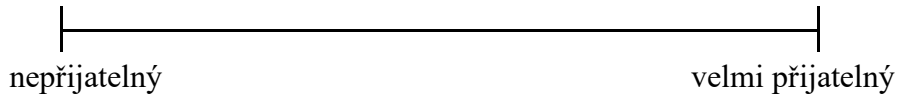


Jiná (doplňte):



5. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

Pomocí uvedené grafické stupnice určete celkovou přijatelnost vzorků



Děkuji za svědomité vyplnění formuláře! Případně připomínky k hodnocení nebo vzorkům napište prosím zde:

Příloha 2: Formulář pro senzorickou analýzu – hodnocení optimalizovaných vzorků a komerčního vzorku

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK

Vážení hodnotitelé, zhodnoťte, prosím, předložené vzorky želé cukrovinek.

Datum: kuřák/nekuřák

Čas: žena/muž

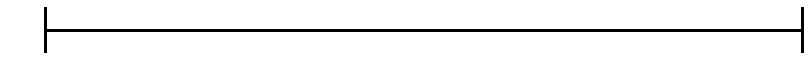
Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?

- želé cukrovinky mám velmi rád/a
- želé cukrovinky nemám příliš rád/a
- želé cukrovinky nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je

Zhodnoťte předložené vzorky v následujících znacích podle uvedených instrukcí, použijte uvedené stupnice.

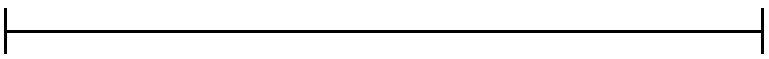
1. Textura

Tuhost – pomocí uvedené grafické stupnice určete tuhost vzorku (hodnoťte zmáčknutím mezi prsty, v ústech při ukousnutí a žvýkání)



velmi měkká velmi tuhá

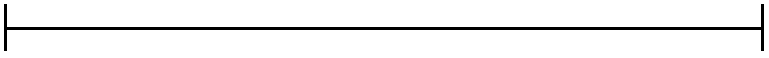
Příjemnost textury – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost textury vzorků



nepříjemná velmi příjemná

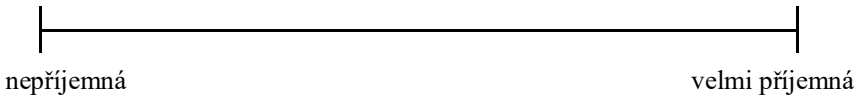
2. Barva

Intenzita barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu barvy vzorků



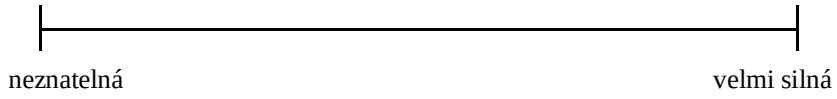
neznatelná velmi silná

Příjemnost barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost barvy vzorků

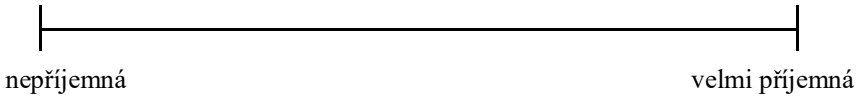


3. Vůně

Intenzita vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu vůně vzorků

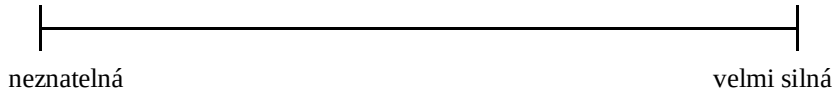


Příjemnost vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost vůně vzorků

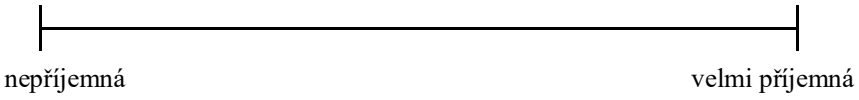


4. Chuť (flavour = komplexní pocit v ústech při konzumaci)

Intenzita chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu chutí vzorků



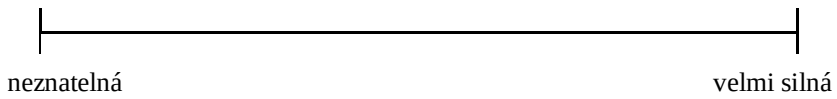
Příjemnost chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost chutí vzorků



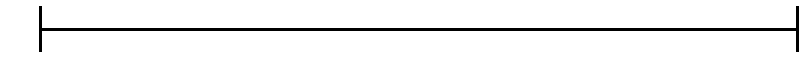
5. Profilový test vybraných chutí

Posuďte, do jaké míry uvedené dílčí chutě vytvářejí celkový dojem chuti. Použijte grafickou stupnici.

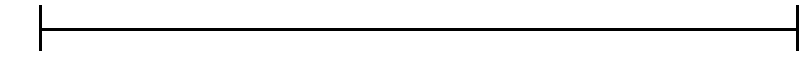
Sladká:



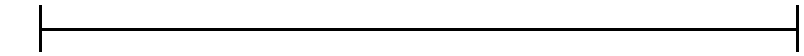
Kyselá:



Ovocná:

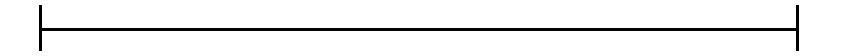


Jiná (doplňte):



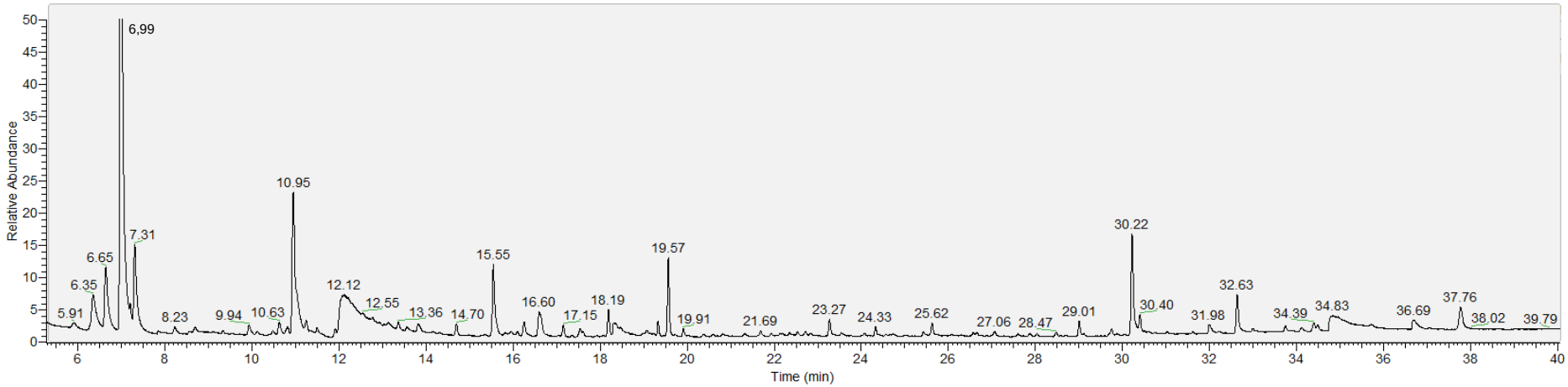
6. Hodnocení celkové přijatelnosti vzorku

Pomocí uvedené grafické stupnice ohodnoťte celkovou přijatelnost vzorku

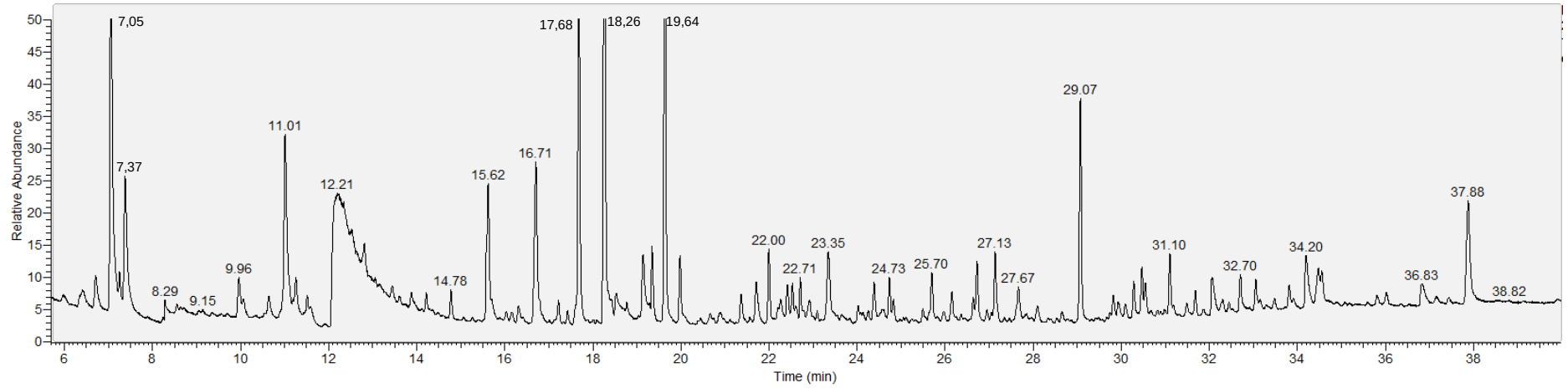


Děkuji za svědomité vyplnění formuláře! Případně připomínky k hodnocení nebo vzorkům napište prosím zde:

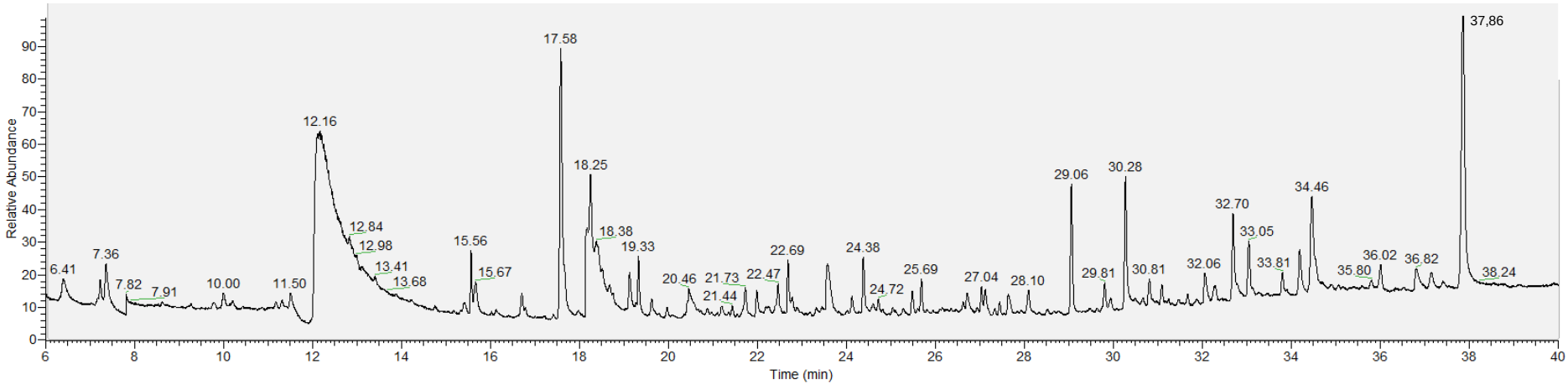
Příloha 3: Chromatogram těkavých látek identifikovaných v plodech borůvek; identifikace sloučenin viz tabulka 23



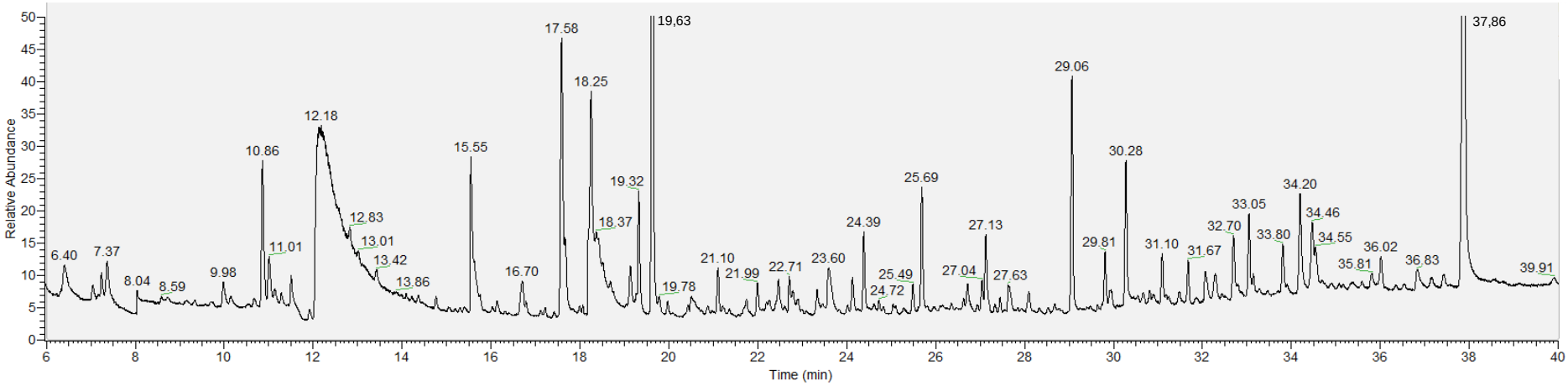
Příloha 4: Chromatogram těkavých látek identifikovaných v extraktu borůvek; identifikace sloučenin viz tabulka 23



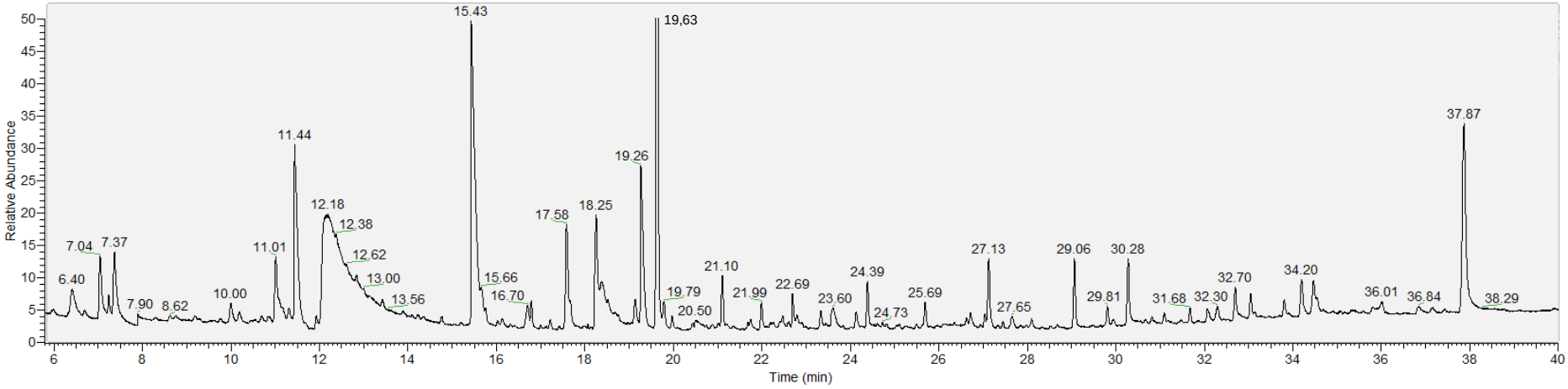
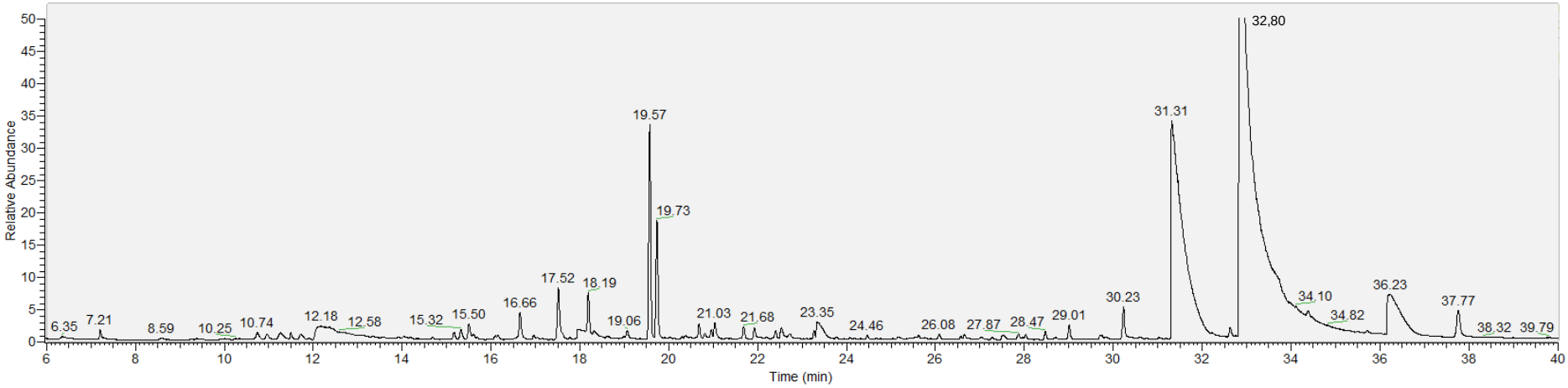
Příloha 5: Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku standardní (neobohacené) cukrovinky; identifikace sloučenin viz tabulka 24



Příloha 6: Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku cukrovinky s optimálním přídavkem extraktu (25 % hm.); identifikace sloučenin viz tabulka 24



Příloha 7: Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku cukrovinky s optimálním přídavkem borůvek (15 % hm.); identifikace sloučenin viz tabulka 24



Příloha 8: Chromatogram těkavých látek identifikovaných ve vzorku komerční borůvkové cukrovinky; identifikace sloučenin viz tabulka 24