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

OPTIMALIZACE VÝROBY NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK S PŘÍDAVKEM EXTRAKTU TUŽEBNÍKU ZA POUŽITÍ RŮZNÝCH SLADIDEL

OPTIMIZING THE PRODUCTION OF NON-CHOCOLATE SWEETS WITH THE ADDITION OF FILIPENDULA ULMARIA EXTRACT USING VARIOUS SWEETENERS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE — Bc. Markéta Malyszová

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-DIP1787/2022	Akademický rok: 2023/24
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Studentka:	**Bc. Markéta Malyszová**	
Studijní program:	Chemie přírodních látek	
Studijní obor:	bez specializace	
Vedoucí práce:	**doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**	

Název diplomové práce:

Optimalizace výroby nečokoládových cukrovinek s přídavkem extraktu tužebníku za použití různých sladidel

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární rešerši dané problematiky
– charakteristika, složení, technologie výroby nečokoládových cukrovinek
– stručná charakteristika vybraného rostlinného materiálu (Filipendula ulmaria), obsažené těkavé (aromatické) látky, látky s antioxidačním a antimikrobiálním potenciálem
– možnosti stanovení těkavých látek, antioxidační a antimikrobiální aktivity, senzorické kvality
2. Komplexně analyzujte vybraný rostlinný extrakt
3. Navrhněte a optimalizujte technologický postup výroby vybraného druhu cukrovinek za použití různých sladidel
4. Do vyrobených modelových vzorků zapracujte rostlinný extrakt a posuďte jeho vliv na antioxidační a antimikrobiální potenciál, profil těkavých látek a celkovou senzorickou kvalitu

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. Markéta Malyszová 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

Cílem této diplomové práce byla optimalizace výrobního procesu želé cukrovinek za použití různých alternativních sladidel a následně přídavku bylinného extraktu tužebníku, čímž se dosáhlo nejen lepších nutričních vlastností, ale i senzorických charakteristik finálního produktu. Pomocí senzorické analýzy byla zvolena ideální kombinace druhu a množství sladidla, které nejvíce vyhovuje požadavkům spotřebitelů na sladkost a texturu výrobku, zatímco obsah energetických složek zůstává nízký. Na základě těchto aspektů bylo zvoleno sladidlo maltitol v množství 50% hm. roztoku.

Práce se dále věnovala optimalizaci přídavku extraktu tužebníku do vyrobených cukrovinek s „ideálním“ sladidlem, přičemž byla opět pomocí senzorické analýzy zvolena optimální koncentrace extraktu a druh želírující látky pro dosažení požadované konsistence, chuti a dalších senzorických parametrů, které výrobek činí pro spotřebitele atraktivním. Po vyhodnocení těchto experimentů byly stanoveny ideální hodnoty 50% hm. pro sladidla, 5 % přídavek extraktu tužebníku a využití želatiny jako želírujícího činidla.

Následně byla provedena také chemická analýza vyrobených vzorků a extraktu tužebníku. Identifikace a kvantifikace těkavých aromatických složek byla realizována pomocí metody HS-SPME-GC-MS, přičemž bylo ve vzorcích identifikováno 39 různých látek, převážně zastoupené ze skupiny alkoholů a aldehydů.

Pro určení celkového obsahu fenolických látek byla použita Folin-Cicalteuova spektrofotometrická metoda a pro stanovení obsahu anthokyanů pH diferenciální metoda. Celkový obsah fenolických látek v extraktu činil 1418,16 ± 6,56 $\mu g \cdot ml^{-1}$ a obsah celkových anthokyanů byl stanoven na 249,19 ± 27,40 $\mu g \cdot ml^{-1}$.

Antioxidační aktivita pak byla testována dvěma metodami, a to pomocí TEAC a DPPH. Výsledky antioxidační aktivity měřené metodou DPPH jsou vyšší, což potvrzuje vyšší robustnost této metody. Oba testy však potvrdily antioxidační aktivitu testovaných vzorků.

Nakonec byla testována i antimikrobiální aktivita vzorků pomocí difúzní jamkové metody proti kmenům *Bacillus cereus* a *Escherichia coli*. Vzorky vykázaly antimikrobiální aktivitu vůči oběma testovaným mikroorganismům, avšak efektivnější účinek prokázaly proti *Bacillus cereus*, což může být způsobeno jednodušší strukturou jejich buněčné stěny.

KLÍČOVÁ SLOVA

cukrovinky, *Filipendula ulmaria*, tužebník jilmový, aromatické látky, antioxidanty, senzorická analýza, SPME, GC-MS

ABSTRACT

The aim of this master's thesis was to optimize the production process of jelly candies using various alternative sweeteners and subsequently adding herbal extract of meadowsweet, achieving not only better nutritional properties but also enhanced sensory characteristics of the final product. Sensory analysis was utilized to determine the ideal combination of sweetener type and amount, which most closely aligns with consumer preferences for sweetness and texture, while maintaining a low energy component content. Based on these criteria, maltitol was selected as the sweetener in a 50% w/w solution.

The study also focused on optimizing the addition of *Filipendula ulmaria* extract to the candies made with the "ideal" sweetener. Again, using sensory analysis, the optimal concentration of the extract and the type of gelling agent were selected to achieve the desired consistency, taste, and other sensory parameters that make the product attractive for consumers. Following these experiments, the ideal values were determined to be 50% w/w for sweetener, a 5 % addition of *Filipendula ulmaria* extract, and the use of gelatin as the gelling agent.

Subsequently, a chemical analysis of the produced samples and meadowsweet extract was also carried out. Identification and quantification of volatile aromatic compounds were performed using the HS SPME GC-MS method, which identified 39 different substances, predominantly from the group of alcohols and aldehydes.

To determine the total content of phenolic compounds, the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method was used, and the pH differential method was employed to determine the content of anthocyanins. The total content of phenolic compounds in the extract amounted to 1418.16 ± 6.56 $\mu g \cdot ml^{-1}$, and the total anthocyanin content was determined to be 249.19 ± 27.40 $\mu g \cdot ml^{-1}$.

Antioxidant activity was tested using two methods, TEAC and DPPH. The results of the antioxidant activity measured by the DPPH method were higher, confirming the greater robustness of this method. However, both tests confirmed the antioxidant activity of the tested samples.

Finally, the antimicrobial activity of the samples was tested using the diffusion well method against strains of *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. The samples exhibited antimicrobial activity against both tested microorganisms, but showed more effective action against *Bacillus cereus*, which may be due to the simpler structure of their cell wall.

KEYWORDS

sweets, *Filipendula ulmaria*, meadowsweet, aroma compounds, antioxidants, sensory analysis, SPME, GC-MS

MALYSZOVÁ, Markéta. *Optimalizace výroby nečokoládových cukrovinek s přídavkem extraktu tužebníku za použití různých sladidel* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-04-20]. Dostupné z: https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148718. 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 citovala správně a úplně. 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 chtěla věnovat zvláštní poděkování paní doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné rady a připomínky během zpracovávání mé diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Matěji Rychetskému za jeho neocenitelnou pomoc a rady při práci v laboratoři.

V neposlední řadě bych také chtěla vyjádřit obrovskou vděčnost své rodině a partnerovi, kteří mi poskytli neustálou podporu a povzbuzení, během celého mého studia, kdykoli jsem to potřebovala.

OBSAH

1 ÚVOD 9
2 TEORETICKÁ ČÁST 10
2.1 Charakteristika nečokoládových cukrovinek 10
2.2 Složení nečokoládových cukrovinek 11
2.2.1 Sladidla 12
2.2.2 Škrob a jeho deriváty 19
2.2.3 Rosolotvorné látky 20
2.2.4 Vosky a laky 21
2.2.5 Barviva 22
2.2.6 Aromata 23
2.2.7 Kyseliny 25
2.3 Technologie výroby nečokoládových cukrovinek 26
2.3.1 Cukrovinky s vykrystalizovanou sacharosou 26
2.3.2 Cukroviny s nevykrystalizovanou sacharosou 26
2.4 Charakteristika rostlinného materiálu 29
2.4.1 Tužebník jilmový 29
2.5 Metody stanovení aromaticky aktivních látek v cukrovinkách 31
2.5.1 Mikroextrakce tuhou fází 32
2.5.2 Plynová chromatografie 33
2.6 Metody stanovení bioaktivních látek 33
2.6.1 Metody založené na eliminaci radikálů 34
2.6.2 Metody stanovení celkového obsahu fenolů 34
2.7 Metody stanovení antimikrobiální aktivity 35
2.7.1 Difúzní metody 35
2.7.2 Diluční metody 38
2.8 Senzorická analýza 38
2.8.1 Podmínky pro senzorickou analýzu 38
2.8.2 Metody senzorické analýzy 39
2.8.3 Senzorická analýza nečokoládových cukrovinek 40

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST ... 41
3.1 Použité chemikálie a laboratorní vybavení ... 41
3.1.1 Chemikálie ... 41
3.1.2 Plyny ... 41
3.1.3 Mikroorganismy ... 41
3.1.4 Pracovní pomůcky ... 41
3.1.5 Přístroje ... 41
3.1.6 Suroviny pro výrobu cukrovinek ... 42
3.2 Analyzované vzorky ... 42
3.3 Použité experimentální postupy a metody ... 44
3.3.1 Metoda HS-SPME-GC-MS ... 44
3.3.2 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity ... 45
3.3.3 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu fenolů ... 46
3.3.4 Spektrofotometrické stanovení antokyanů ... 47
3.3.5 Ověření antimikrobiální aktivity ... 47
3.3.6 Senzorická analýza ... 48
3.3.7 Statistické vyhodnocení výsledků ... 50
4 VÝSLEDKY A DISKUZE ... 51
4.1 Optimalizace technologického postupu výroby želé ... 51
4.1.1 Aplikace náhradního sladidla ... 51
4.1.2 Přídavek bylinného extraktu a želírujícího činidla ... 52
4.2 Optimalizace množství a druhu sladidla a jeho vliv na senzorickou kvalitu ... 52
4.2.1 Příjemnost sladké chuti a celkového flavouru ... 52
4.2.2 Chuťový profil želé ... 58
4.3 Optimalizace aplikace bylinných extraktů ... 64
4.3.1 Želé cukrovinky s želatinovým želírujícím činidlem ... 64
4.3.2 Želé cukrovinky s agarovým želírujícím činidlem ... 72
4.3.3 Srovnání želatinových a agarových želé cukrovinek s přídavkem extraktu z hlediska jejich senzorické kvality ... 79
4.4 Charakterizace extraktu tužebníku a želé cukrovinek ... 80
4.4.1 Identifikace těkavých látek ... 80

4.4.2 Stanovení antioxidační aktivity ... 85
4.4.3 Stanovení celkového obsahu fenolů ... 88
4.4.4 Stanovení antokyanů ... 89
4.4.5 Stanovení antimikrobiální aktivity ... 90
5 ZÁVĚR ... 93
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ ... 95
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK ... 106
8 SEZNAM PŘÍLOH ... 107
9 PŘÍLOHY ... 108

1 ÚVOD

V současné době se trh spotřebitelů vrací k oceňování kvality potravin, které nejenže splňují základní nutriční požadavky, ale nabízí také další přínosy pro zdraví. Tento trend vede potravinářský průmysl k hledání inovativních řešení, která vyhovují rostoucí poptávce po takovýchto produktech s vyšší přidanou hodnotou.

Alternativní sladidla, jako jsou stévie, xylitol a maltitol, představují významné substituenty tradičních sladících komponent, které poskytují možnost zachování senzorických kvalit, ale zároveň přináší výhody v podobě snížení energetické hodnoty a zlepšení nutričního profilu cukrovinek.

Současně s tím je zkoumán vliv přidání extraktu tužebníku, byliny s dlouhou historií použití ve farmaceutickém průmyslu a tradiční medicíně, jejíž bioaktivní látky nabízejí potenciální zdravotní benefity (např. protizánětlivé účinky, podpora trávení). Tato bylina je také vybrána kvůli jejímu přirozeně aromatickému charakteru, který může cukrovinkám dodat příjemnou, přirozenou chuť a aroma bez nutnosti použití nežádoucích umělých aromat a barviv.

Tato diplomová práce představuje spojení mezi klasickými postupy výroby želé a moderními požadavky na zdravé stravování a nutriční benefity výrobků. Cílem práce je nejen vývoj a senzorická optimalizace modelových vzorků želé cukrovinek, tak, aby vyhovovaly spotřebitelským preferencím, ale také komplexní hodnocení vlivu sladidel a přidaného extraktu na jejich chemické vlastnosti, jako jsou antioxidační a antimikrobiální aktivita i obsah těkavých látek. Závěry této práce se snaží přinést poznatky, které budou významné jak pro spotřebitele, tak pro potravinářský průmysl.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Tato diplomová práce je zaměřena na výrobu nečokoládových cukrovinek s extraktem z tužebníku jilmového s využitím různých náhradních sladidel. Teoretická část obsahuje charakteristiku, složení nečokoládových cukrovinek a technologii jejich výroby. Dále je zahrnuta stručná charakterizace vybraného rostlinného materiálu se zaměřením na látky s aromatickým, antioxidačním a antimikrobiálním potenciálem v něm obsažené.

Popsány jsou i metody vhodné pro stanovení těkavých látek, antioxidační a antimikrobiální aktivity. Samostatná závěrečná kapitola je pak věnována senzorické analýze.

2.1 Charakteristika nečokoládových cukrovinek

Současná legislativa Ministerstva zemědělství (Vyhláška č. 76/2003 Sb.), definuje nečokoládové cukrovinky jako potraviny jiné než čokolády a čokoládové bonbóny, přičemž jejich základní složkou jsou především sladidla. Jejich součástí může být i kakaová složka, ta však nepřesahuje 5 % obsahu cukrovinky [1]. Zmíněná vyhláška v příloze č. 4 uvádí také členění nečokoládových cukrovinek na skupiny a podskupiny, přičemž zároveň i jednotlivé skupiny definuje (viz Tabulka 1).

Cukrovinky lze také rozlišit podle způsobu vykrystalizování sacharosy, což je fyzikální změna probíhající v cukerném roztoku nečokoládových cukrovinek, při níž se vytvoří či naopak nevytvoří krystaly cukru. Jestliže se v konečném výrobku krystalky vyskytují, jde o skupinu cukrovinek s vykrystalizovanou sacharosou. Takovéto pochoutky jsou krémové, jemné konzistence (např. fondánové výrobky, marcipán, nugát). Pokud se krystalky v konečném výrobku nevytváří, cukr zůstává v nevykrystalizované formě, a jedná se tedy o cukrovinky s nevykrystalizovanou sacharosou (neboli amorfní). Výsledné produkty mohou být měkké i tvrdé konzistence. Do této kategorie spadají kandyty (roksy, dropsy a furé), želé a karamely [2].

Tabulka 1: Členění cukrovinek na druhy, skupiny a podskupiny dle vyhlášky č. 76/2003 Sb. [1]

Druh	Skupina	Definice
Nečokoládové cukrovinky	Karamely	tvárlivá konzistence, mírně žvýkavé, s různou příchutí
	Dražé	tužší až tvrdá konzistence s různými vložkami, s nábalem zejména cukru
	Želé	cukrovinky s konzistencí gelu vzniklým přídavkem želírujících látek (pektinu, agaru, škrobu nebo želatiny)
	Marcipán	polotuhá konzistence, různé tvary vyrobené z nejméně 1 dílu surové marcipánové hmoty (sestávající se nejméně z 50 % loupaných mandlí a nejvýše 50 % cukru) a nejvýše 1 dílu cukrové moučky, popřípadě přibarvené, na povrchu upravené sypáním, zdobením či polevou

Tabulka 1: Členění cukrovinek na druhy, skupiny a podskupiny dle vyhlášky č. 76/2003 Sb. [1] – pokračování

Druh	Skupina	Definice
Nečokoládové cukrovinky	Rahat	škrobové želé různých tvarů obalených směsí práškového cukru a škrobu
	Turecký med	šlehaný cukrosirupový roztok s bílkem, popřípadě s přídavkem suchých skořápkových plodů
	Chalva	šlehaná kandytová hmota s pěnotvornou látkou pastovité konzistence, popřípadě s přídavkem suchých skořápkových plodů a tuku
	Lékořicové cukrovinky	cukrovinky ze směsi cukru, glukosového sirupu a mouky, popřípadě dalších surovin, jejichž charakteristickou složku tvoří výtažek z lékořice
	Fondánové cukrovinky	polotuhá až tuhá konzistence z cukerné hmoty, popřípadě s přídavkem dalších látek s jemnou krystalickou strukturou
	Komprimáty	cukrovinky vyráběné lisováním ochucených a obarvených práškovitých směsí, zejména ve tvaru čoček nebo tablet
	Žvýkačky	výrazně gumovitá až tažná konzistence s různými příchutěmi
	Dropsy	neplněné, z kandytové hmoty, složené převážně z cukrů a glukosového sirupu, různě tvarované, různé barvy a chuti, tvrdá konzistence
	Roksy	tvrdá konzistence (podobné dropsům), ve tvaru špalíčků, tyčinek nebo lízátek, které mohou mít na průřezu barevné obrazce z kandytové hmoty
	Furé	cukrovinky z kandytové hmoty, na povrchu matné či sklovité, tvrdá konzistence, obsahující uvnitř minimálně 13 % polotuhé nebo tekuté náplně
	Pěnové cukrovinky (marshmallow)	lehké, pěnovité, žvýkavé konzistence, případně s jemnými částicemi směsi práškového cukru, škrobu anebo jejich kombinací

2.2 Složení nečokoládových cukrovinek

Zásadní význam, který ovlivní preference spotřebitelů nečokoládových cukrovinek, spočívá již v procesu výběru, nákupu a následné konzumace těchto produktů. Celkový dojem, který spotřebitel získá, hraje klíčovou roli pro opakovanou koupi výrobku. Je tedy nutné, aby cukrovinka splňovala očekávání i požadavky na kvalitu, které spotřebitel má [3].

Proto je pro výrobce nezbytné porozumět charakteristické kvalitě cukrovinek a faktorům, které ji mohou ovlivnit. Z tohoto důvodu by měly být vždy zváženy účinky majoritních

i minoritních složek používaných pro výrobu cukrovinek a jejich vzájemné interakce, aby mohlo být dosaženo prvotřídního výsledku [3].

2.2.1 Sladidla

Sladká chuť je preferovaná jak lidmi, tak živočichy, zejména proto, že cukr představuje hlavní zdroj získávání energie [4]. Kromě toho hraje klíčovou roli při vytváření dojmu chuťové plnosti [2]. Pravděpodobně z tohoto důvodu je sladká chuť jedním z nejintenzivnějších pocitů, který mohou lidé zažít [5]. V rámci výroby cukrovinek se pro onen sladký vjem používají látky označované jako sladidla, která můžeme dále rozdělit dle jejich původu na přírodní, umělá identická s přírodními složkami a umělá [2].

Sladidla lze rozdělit také podle obsahu energie na výživová (*nutritive*) a nevýživová (*non-nutritive*). Výživová sladidla, jako například sacharosa, poskytují energetickou hodnotu. Naopak nevýživová sladidla, například aspartam, sukralosa nebo steviolglykosidy ze stévie, jsou typické tím, že poskytují minimální nebo žádnou energii [6].

V průmyslové výrobě potravin a nápojů se obě tyto kategorie sladidel často kombinují za účelem dosažení optimální sladkosti, bez zbytečného příjmu energie. Tento přístup umožňuje vytvářet potraviny s příjemnou sladkou chutí, aniž by se zvyšoval energetický příjem, což odpovídá současným trendům zdravého stravování [7].

2.2.1.1 Přírodní sladidla

V dnešní době roste zájem spotřebitelů o sladidla přírodního původu a dochází ke snaze omezení přijmu umělých potravinářských aditiv, primárně ze zdravotních důvodů a možných problémů souvisejících s bezpečností umělých sladidel [8].

Sacharosa, známá též jako řepný cukr, se v průmyslové výrobě cukrovinek umístila na první příčce nejvyužívanějších a nejznámějších přírodních sladidel. Z hlediska senzorických vlastností poskytuje nejen požadovanou sladkou chuť, ale přispívá i k pevnější struktuře cukrovinek [2]. Požadavky na její polarimetrickou čistotu a vlastnosti, fyzikální i chemické, jsou definovány v příloze č. 2 vyhlášky č. 76/2003 Sb. [1].

Mezi tradičními přírodními sladidly zaujímají ostatní sacharidy, jako jsou fruktosa, laktosa a glukosa, v rámci využití menší podíl. Tyto sacharidy se selektivně používají jen v určitých recepturách [2].

Agávový nektar

Jedním z příkladů alternativních přírodních sladidel může být agávový nektar, který je přibližně 1,5x sladší než bílý cukr a často se používá ke slazení nápojů. Toto sladidlo je vhodné i pro pečení, avšak je třeba upravit poměr sypkých surovin a dobu pečení, protože agávový nektar zadržuje vlhkost. Jeho využití je příznivé i při nízkosacharidových dietách, neboť má minimální vliv na hladinu cukru v krvi. Agávový nektar tak funguje jako veganská alternativa medu [9, 10].

Datlový cukr

Tento druh cukru je vytvářen z mletých datlí a vyniká obsahem vlákniny a minerálních látek. Sladivost je přibližně stejná jako u cukru, ale jeho chuť je bohatší. Byť je jeho použití omezené kvůli vyskytujícím se kouskům datlí, které se nerozpouští, jedná se o poměrně drahou surovinu [9, 11].

Javorový sirup

Vyrábí se vařením mízy z javorů, dokud přítomné cukry nezkondenzují na hustý sirup. Takto vyrobený sirup obsahuje minerály, jako např. vápník, mangan a draslík [12]. Dalším způsobem výroby je kombinace kukuřičného sirupu, javorového aroma a barviva, avšak tento způsob neobsahuje zdaleka takové množství minerálů, jako přírodní javorový sirup [9].

Melasa

Další alternativou je využití „odpadní“ suroviny, která vzniká při zpracování cukrové řepy nebo třtiny na bílý cukr – tento vedlejší produkt se nazývá melasa. Druh melasy závisí na zralosti řepy nebo třtiny. Její sladivost je zhruba o 30% menší, než u cukru a její chuť je značně kyselejší. Navíc dodává silně aromatickou chuť a tmavé zbarvení. Melasou třtinovou, která se používá primárně při pečení, se nedoporučuje nahrazovat více než polovina bílého cukru. Zástupcem této „odpadní“ skupiny surovin je i málo známý čirokový sirup, jenž je vlastnostmi velmi podobný melase [9, 13].

Stévie

Stévie je rostlina známá také jako „medové lístky“ či „sladká tráva“ pocházející z Jižní Ameriky, kde ji původní obyvatelé využívali jako sladidlo a léčivou rostlinu. Postupně se stala oblíbenou i mimo Jižní Ameriku a našla uplatnění po celém světě [14]. Ve výzkumu byly provedeny pokusy s extrakcí sladkých látek ze stévie ([15, 16]), což vedlo k objevu sladivých glykosidů, jako jsou steviolglykosidy, které jsou zodpovědné za její intenzivní sladkost (až 350x vyšší než sacharosa), což umožňuje její použití pouze ve velmi malých množstvích, a přitom dosažení žádané sladké chuti [14].

Oproti běžnému cukru má výhodu v tom, že během zpracování nekaramelizuje ani nekrystalizuje, což rozšiřuje její využití v různých potravinářských aplikacích. Kromě slazení nápojů, cereálií, jogurtů a cukrovinek, ji lze využít i v receptech na dezerty, omáčky a další pokrmy [9].

Stévie je i oblíbenou volbou při výrobě nízkoenergetických a nízkosacharidových výrobků. Navíc má minimální vliv na hladinu cukru v krvi, což ji činí vhodnou alternativou pro osoby s diabetem nebo pro ty, kteří se snaží udržovat stabilní hladinu cukru v rámci dietních omezení [17].

2.2.1.2 Náhradní sladidla

Při výrobě cukrovinek jsou náhradní sladidla využívána zejména pro výrobu diabetických sladkostí a cukrovinek s nižší energetickou hodnotou. Tato sladidla lze rozdělit do dvou hlavních kategorií: cukerné alkoholy a syntetická sladidla. Oproti běžné sacharose mají nižší

energetickou hodnotu a mohou být intenzivněji sladší. Nahrazení cukru těmito sladidly však často neumožňuje dosáhnout stejně kvalitní chuťové plnosti [2].

Pro optimální výběr náhradních sladidel je nutné splnit několik kritérií: termostabilitu sladidla, cenovou dostupnost, nízkou energetickou hodnotu, přijatelnou sladivost bez nepříjemné pachuti a v neposlední řadě zdravotní nezávadnost [18].

Cukerné alkoholy

Cukerné alkoholy jsou řazeny mezi hydrogenované sacharidy a jedná se o běžnou substituci sacharosy v cukrovinkách určených pro diabetiky [19]. Tato sladidla mají řadu výhodných vlastností. Díky vyššímu bodu varu oproti sladidlům přírodního původu a chybějící aldehydové skupině nepodléhají Maillardově reakci, která může negativně ovlivnit senzorické vlastnosti výsledného výrobku [2]. Mezi nejznámější zástupce patří isomalt, erythritol, laktitol, mannitol, sorbitol, maltitol a xylitol [19]. Poslední dvě jmenovaná sladidla jsou v této práci používány, proto budou popsána podrobněji. Další cukerné alkoholy, jejichž použití je povoleno v EU, jsou stručněji popsány v Tabulce 2 [20].

Tabulka 2: Přehled cukerných alkoholů ([20-23])

Název	Označení – „E-kód“	Vlastnosti
isomalt	E 953	Vyráběn z cukrové řepy, odpovídá 45%-60% sladivosti sacharosy, nízká hygroskopicita (prodloužení skladovatelnosti), vysoká stabilita vůči chemické a enzymatické hydrolýze
erythritol	E 968	Látka přirozeně produkována pomocí enzymů houby *Moniliella pollinis*, odpovídá 65% sladivosti sacharosy
laktitol	E 966	Výroba hydrogenací laktosy, obsahuje polovinu energie oproti cukru a dosahuje 40% jeho sladivosti, využití při přípravě diabetických cukrovinek
mannitol	E 421	Vyráběn redukcí glukosy, izomer sorbitolu, odpovídá 50% sladivosti cukru
sorbitol	E 420	Vyráběn redukcí glukosy, izomer mannitolu, separován na základě vyšší rozpustnosti, odpovídá 60% sladivosti cukru

Xylitol (E967) patří mezi cukerné alkoholy a vyniká svou vysokou sladivostí, která je srovnatelná se sacharosou, avšak obsahuje pouze cca dvě třetiny energie. Kromě toho má vysoké rozpouštěcí teplo a v ústech vyvolává příjemný chladivý efekt, což z něj činí oblíbenou přísadou do různých potravinářských produktů. Často se využívá v recepturách při výrobě žvýkaček, zmrzlin, čokolád, marmelád, a dokonce i v kosmetickém průmyslu; například při výrobě zubní pasty. Tradičně se získával z březového dřeva, ale moderní metody preferují výrobu redukcí z rostlinné celulosy, převážně z kukuřice nebo švestek, bohatých na xylosu [22, 24].

Jedním z klíčových benefitů xylitolu je jeho nízký vliv na hladinu cukru v krvi, protože při jeho metabolické přeměně není potřeba inzulin. Tato vlastnost jej činí vhodným pro diabetiky, kteří mohou sladit své pokrmy a nápoje bez obav o dramatický vzestup hladiny cukru [22, 24].

Zajímavá byla také finská studie Anttonena a kol. [25], která přinesla zjištění ohledně pravidelné konzumace produktů obsahujících xylitol u dětí. Taková konzumace nejenže výrazně snižuje riziko výskytu zubního kazu, ale také účinně redukuje incidenci zánětu středního ucha. V rámci této studie bylo zjištěno, že u dětí do tří let může dojít k až 60% snížení výskytu akutní otitidy, u starších dětí nad tři roky bylo pozorováno snížení až o 40 %. Jedním z klíčových faktorů tohoto pozitivního účinku je schopnost xylitolu inhibovat růst bakterie *Streptococcus pneumoniae,* způsobující právě tento zánět [25].

U bakterií *Streptococcus mutans,* které vytváří na povrchu zubů biofilmy, známé také jako zubní plak, prokazuje xylitol schopnost omezit jejich růst, a tím i tvorbu zubního kazu. Narušuje jejich metabolismus v oblasti tvorby energie tím, že stimuluje cyklus spotřeby energie, což následně vede k odumírání bakteriálních buněk. Navíc má potenciál minimalizovat demineralizaci skloviny a dentinu [26].

Studie o prevenci zubního kazu u lidí „*Turku Sugar Studies*“ byla první studií, která prokázala snížení zubního plaku konzumací xylitolu. Právě ve Finsku byl xylitol poprvé integrován do žvýkaček s cílem nejen léčit zubní kaz, ale také zlepšit celkové zdraví ústní dutiny [26].

Takové výsledky naznačují, že pravidelná konzumace xylitolu může poskytovat dvojí benefit pro dětské zdraví – nejen ochranu proti zubnímu kazu, ale zmírnění rizika vzniku zánětu středního ucha [26].

Xylitol může být využíván i jako syntetická stavební jednotka. Nedávno byl označen i jako jeden z nejlepších materiálů vyráběných z biomasy, které představují klíčový prvek pro efektivní správu biorafinérií a ekonomické využití obnovitelných zdrojů [27].

Přestože nabízí řadu výhod, je důležité používat ho s rozvahou, protože při nadměrné konzumaci může způsobit syndrom dráždivého tračníku, průjem, nadýmání či nefrolitiázu (ledvinové kameny) [26]. V České republice a v celé Evropské unii je používání xylitolu v potravinách povoleno, s výjimkou dětské výživy [22]. V případě, že produkt obsahuje více než 10 % tohoto sladidla, vyžaduje se specifické označení na obalu, které informuje spotřebitele o možných projímavých účincích při nadměrné konzumaci [22].

Maltitol (E965) je díky svým fyzikálním i chemickým vlastnostem nejpodobnější sacharose. Odpovídá až 75-90 % její sladivosti a není tedy nutné jej kombinovat s jinými sladidly, což z něj činí významného substituenta cukru. Oproti sacharose ale obsahuje polovinu energie. Nepatrný vliv tohoto sladidla na glykemii jej rovněž činí vhodným ke konzumaci pro diabetiky [22, 28].

Výrobní proces maltitolu probíhá průmyslově z cukerných produktů nebo pomocí hydrogenace maltosy, získané ze škrobu nebo sacharosy. Kromě využití při výrobě cukrovinek (zejména kandytů, žvýkaček a nugátu), nachází uplatnění i jako zvlhčující látka, plnící látka a stabilizátor. Tyto její různorodé vlastnosti se uplatňují i v kosmetickém odvětví nebo při výrobě tabáku, kde dokáže regulovat konzistenci a vlhkost [29].

Bezpečnost maltitolu byla zkoumána prostřednictvím výzkumů provedených na zvířatech i lidech [30]. Studie na krysách ukázaly, že po konzumaci maltitolu došlo k určitým změnám v jejich nadledvinkách. S tím byly údajně spojeny i změny související se zvýšením výskytu nádorů nadledvin a prsních žláz u samic. Tento případ přezkoumal i mezinárodní vědecký výbor JECFA (Společný výbor expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva), který poskytuje vědecké poradenství týkající se hodnocení bezpečnosti potravinářských přídatných látek v EU. Dle JEFCA tyto negativní projevy nebyly způsobeny konzumací maltitolu v průběhu studie a sladidlo bylo zařazeno do kategorie nejbezpečnějších potravinářských aditiv [30]. V porovnání s jinými polyalkoholy jsou jeho projímavé účinky relativně mírné, a navíc se vyskytují až při konzumaci velmi vysokých dávek. Stanovený laxativní práh je 100 g/den a může být i vyšší (záleží i na fyzických aspektech jedince). V takovém případě pak můžou kromě nadýmání hrozit i další gastrointestinální obtíže [30, 31].

Další studie byla provedena na potkanech a zabývala se jeho možnými genotoxickými a cytotoxickými účinky [32]. Zkoumány byly na buňkách kostní dřeně pomocí testu chromozomové aberace. Společně s tím byla hlídána i možná teratogenita a embryotoxicita. Pro odhalení genotoxicity a cytotoxicity byly potkanům intraperitoneálně (do břišní dutiny) podávány různé koncentrace (2,5, 5 a 10 g/kg tělesné hmotnosti) maltitolu po dobu 6, 12 a 24 hodin. Embryotoxicita a teratogenita byla zkoumána na těhotných samicích, kterým se během prvních 7 dnů těhotenství intraperitoneálně podávaly dávky maltitolu také v různých koncentracích (1, 2 a 4 g/kg tělesné hmotnosti/den).

Výsledky ukázaly, že maltitol nevyvolal chromozomové aberace a nezpůsobil snížení mitotického indexu v buňkách kostní dřeně potkanů při žádné z podaných koncentrací a léčebných období. Dále bylo zjištěno, že maltitol nevykazoval teratogenní vlastnosti. Pouze u nejvyšší podávané dávky u těhotných samic (4 g/kg tělesné hmotnosti) došlo k redukci hmotnosti plodů a zpomalení jejich růstu [32].

V EU je možné maltitol používat jako sladidlo do potravin v nezbytném množství a také jako stolní sladidlo, často kombinovaný s aspartamem, kde potlačuje jeho lehce umělou pachuť [22].

Syntetická sladidla

Syntetická sladidla jsou chemické látky s velmi intenzivní sladivostí, což umožňuje jejich použití v potravinách v extrémně malých množstvích [2]. Vyrobena jsou chemickou cestou a jejich energetická hodnosta je často zanedbatelná [21]. Běžně se kombinují s cukernými alkoholy, což nejenže zjemňuje jejich chuť, ale navíc může i překrýt případné nahořklé chutě některých syntetických sladidel [2, 33]. V následující tabulce jsou uvedena syntetická sladidla, povolená v ČR legislativou dle Nařízení Komise EU [20].

Tabulka 3: Syntetická sladidla [2, 21, 22]

Název	Označení – „E-kód“	Vlastnosti
Sacharin (sodná, draselná a vápenatá sůl)	E 954	300-800x sladší než cukr. Velkou nevýhodou je jeho nahořklá kovová chuť a proto se kombinuje s jinými sladidly. Používá se k doslazování nealkoholických nápojů i v kosmetickém průmyslu.
Aspartam	E 951	Asi 200x sladší než sacharosa. Nestabilní při vysokých teplotách a kritickém pH. Často je kombinovaný s ostatními sladidly, dokáže potlačit pachutě.
Acesulfam K	E 950	200x sladší než sacharosa, ve vyšších koncentracích nahořklý. Velmi odolný vůči vysokým teplotám – vhodný i pro tepelné úpravy pokrmu (pečení).
Kyselina cyklamová (sodná, a vápenatá sůl)	E 952	40x vyšší sladivost, vysoce stabilní při působení tepla, kyselin a zásad. Může zvyšovat účinky ostatních karcinogenů.
Sukralosa	E 955	600x sladší než cukr, je jeho derivátem. Vysoce stabilní.
Neohesperidin DC	E 959	Asi 1000x sladší než cukr. Zvýrazňuje aroma, funguje i jako regulátor chuti.

Tabulka 3: Syntetická sladidla [2, 21, 22] – pokračování

Název	Označení – „E-kód“	Vlastnosti
Neotam	E 961	AŽ 8000x sladší než cukr. Derivát aspartamu, tepelně stabilní. Bez pachutě.
Sůl aspartamu/acesulfamu	E 962	Cca 350x sladší než sacharosa, komerčně se vyskytuje pod názvem Twinsweet.
Polyglycitolový sirup	E 964	Složen z maltitolu a sorbitolu. Bezbarvá, čirá tekutina bez zápachu.

Před schválením použití náhradních sladidel v potravinách probíhá testování a výzkum možných nežádoucích účinků, přičemž se zároveň stanovuje i maximální množství daného sladidla, které může člověk zkonzumovat za den (tzv. přijatelný denní příjem – ADI). Tento odhad je založen na spotřebě potraviny, do které má být sladidlo přidáno a na aplikované dávce. Pouze sladidla, která prošla tímto schvalovacím procesem, mohou být přidávána do potravin, a to pouze v určeném množství a dané čistotě. Výrobci, kteří využívají povolená sladidla, jsou povinni jasně označit tuto skutečnost na obalu výrobku v rámci sekce „složení“, a to buď pomocí E-kódu či slovně. Kromě toho musí být uvedena veškerá případná rizika spojená s jejich užíváním [2, 34].

Existuje samozřejmě i celá řada umělých sladidel, která není povoleno v ČR anebo i v celé EU používat. Příkladem může být poměrně nově objevená látka alitam (E956), jehož struktura je podobná molekule aspartamu, avšak má výrazně vyšší sladivost a stabilitu. Má přibližně 2000x vyšší sladivost než sacharosa, je rozpustný a tepelně stabilní, bez pachutě. Codex Alimentarius (CA) neboli Mezinárodní potravinářský kodex vydal pozitivní stanovisko k této látce, a lze očekávat její budoucí povolení pro použití ve potravinách [22, 30].

Další takovou látkou je glycyrrhizin (E958), přírodní sladidlo vyskytující se v oddencích lékořice. Odpovídá asi 50-100x sladivosti cukru. Má silnou lékořicovou pachuť, kterou sice lze potlačit kombinací s laktosou a sorbitolem, i tak je ale jeho použití omezenější. Má negativní vliv na osoby trpící hypertenzí [22, 30].

Advantame (E969) je taktéž poměrně nové sladidlo, vyvinuté společností z Japonska. Jedná se o derivát vanilinu a aspartamu, asi 37000x sladší než cukr. Je termostabilní a bez pachuti. Podle knižní publikace Naborse [33] „Alternative sweeteners” má potenciál do budoucna nahradit až 40 % objemu používaných sladidel, bez jakékoli změny chuti celkového produktu. Díky své levné výrobě, vysoké sladivosti a faktu, že použití tohoto sladidla je již povoleno v rámci EU, je pravděpodobné, že v následujících letech jej bude možné použít i v České republice [30, 33].

2.2.2 Škrob a jeho deriváty

Škrob a jeho deriváty představují klíčové složky v potravinářském průmyslu, zejména v oblasti nečokoládových cukrovinek. Tyto látky hrají zásadní roli při tvorbě textury, chuti a celkové kvality výrobků. Jejich význam je u želé cukrovinek výrazný, zajišťuje totiž jejich specifickou strukturu a konzistenci [35].

Škrob je polysacharid, nejčastěji získávaný z brambor, obilovin, rýže či kukuřice a skládá se z amylosy a amylopektinu. Tyto komponenty ovlivňují texturu, viskozitu a želírující schopnosti škrobu, což je pro výrobu nečokoládových cukrovinek zásadní. V želé slouží škrob jako zahušťovadlo a gelující činidlo, svou schopností absorbovat vodu a vytvářet gely je klíčem pro dosažení požadované pružnosti a žvýkatelnosti výrobku. Další výhodou je jeho chuťová neutralita, která umožňuje výrobci manipulovat s chutí produktu bez ovlivnění jiných vlastností [36]. Navíc je škrob v porovnání s jinými zahušťovadly a gelujícími činidly cenově dostupnější, což z něj činí atraktivní volbu pro výrobce cukrovinek [35]. Kukuřičný škrob je vhodný materiál na formy při odlévání gumových a fondánových cukrovinek [2]. Mimo jiné se používá i jako poprašek na cukrovinky, aby se zamezilo jejich lepivosti. Kromě potravinářské oblasti se využívá i v dalších průmyslových sektorech, jako je textilní nebo papírenský průmysl [35].

2.2.2.1 Škrobový sirup

Škrobový sirup je klíčovou surovinou v technologii nečokoládových cukrovinek, jeho výroba je založena na hydrolýze škrobu. Existují různé metody hydrolýzy, včetně kyselé, enzymové nebo kombinované, které se používají na škroby z různých zdrojů. Hydrolýza vede k výrobě různých typů sirupů, přičemž enzymová hydrolýza typicky produkuje maltosový sirup s vysokým obsahem maltosy, zatímco kyselá hydrolýza vede k výrobě škrobového sirupu [2].

Ve výrobě nečokoládových cukrovinek má škrobový sirup mnohostranné využití. Zlepšuje technologické vlastnosti produktů, například tím, že zabraňuje rekrystalizaci sacharosy, což je klíčové pro udržení vláčnosti, průzračnosti a tím i atraktivity výrobku. Dále také zahušťuje cukerné roztoky bez zvyšování jejich sladkosti a zabraňuje tzv. omírání, což je vada výrobku charakterizovaná krystalizací sacharosy na povrchu cukrovinky [37].

Klíčovou charakteristikou škrobových sirupů je jejich stupeň hydrolýzy, známý jako Dextrose Ekvivalent (DE). Tento ukazatel měří obsah redukujících látek v sirupu, vyjádřený jako objem glukosy. DE souvisí s klíčovými vlastnostmi škrobu, jako je viskozita, hygroskopicita a sladivost. U škrobových sirupů se hodnota DE obvykle pohybuje v rozmezí 38–42 %. Maltosové sirupy mají naopak specifické charakteristiky, jako jsou lepší textura, průzračnost a nižší vodní aktivita, což je důvodem jejich použití při výrobě kandytů [2].

Varný poměr, tedy poměr škrobového sirupu k sacharose, je dalším důležitým faktorem, který ovlivňuje kvalitu a texturu finálního produktu. Vysoký obsah škrobového sirupu vede k tvorbě silně hygroskopických a viskózních hmot, které jsou obtížně tvarovatelné. Naopak nízký obsah škrobového sirupu zvyšuje tendenci k omírání [37].

Hydrogenací škrobových sirupů, zejména maltosového sirupu, lze získat sirupy s nižší energetickou hodnotou, jako jsou maltitové sirupy. Tyto inovace umožňují výrobci nabízet zdravější alternativy a rozšiřovat sortiment cukrovinek [2].

2.2.3 Rosolotvorné látky

Želírující látky, jinak také rosolotvorné, jsou nezbytnou součástí potravinářského průmyslu, zvláště pro výrobu želé cukrovinek. Látky používané pro tyto účely jsou organického původu a hydrofilní povahy, díky čemuž jsou schopny vázat vodu a za určitých podmínek tvořit gel neboli rosol [21]. Tato schopnost dokáže významně ovlivnit výslednou texturu výrobků. Existují dva hlavní typy zdrojů želírujících látek – polysacharidové a bílkovinné. Každý z nich má své unikátní vlastnosti, které je činí vhodnými pro různé aplikace v potravinářství [2].

2.2.3.1 Agar (E 406)

Agar je polysacharid, který se získává z buněčných stěn červených mořských řas za pomocí extrakce horkou vodou. V horké vodě má schopnost tvořit koloidní roztok, který se následně při teplotě 30-40 °C mění v pevný a stabilní gel. Ve studené vodě je nerozpustný. Výhodou agaru je jeho nízký obsah energie a jeho schopnost vytvářet čiré gely, což je žádoucí ve výrobě esteticky atraktivních potravin. Za vyšších teplot je však citlivý na přítomnost kyselin (nízké pH), což může vést k jeho hydrolýze a negativnímu ovlivnění schopnosti agaru tvořit gelové struktury. Lze jej využít v dalších potravinářských aplikacích a díky jeho původu může sloužit jako vegetariánská nebo veganská alternativa želatiny. Dostupný je ve formě plátků nebo prášku [2, 21].

2.2.3.2 Alginát (E 404)

Algináty jsou, podobně jako agar, polysacharidy získávané z mořských řas, v tomto případě z řas hnědých. V praxi se používají hlavně ve formě vápenatých solí, jelikož kyselina alginová tvoří gely v přítomnosti vápenatých iontů. Výsledná pevnost a stabilita těchto gelů tedy závisí na koncentraci vápníku, ale i na pH a typu kyseliny alginové. Algináty jsou ideální pro aplikace, kde jsou potřeba gely odolné a stabilní i při vyšších teplotách a jsou často používány jako stabilizátory tukových emulzí. Vzhledem k jejich flexibilitě a schopnosti tvořit různě pevné gely mohou být algináty použity ve výrobě potravin jako jsou želé cukrovinky, omáčky i dezerty [2, 21].

2.2.3.3 Karagenany (E 407)

Další polysacharidy, extrahované z mořských řas, avšak červeného druhu, jsou karagenany. Ty existují ve třech hlavních formách – ι (iota), κ (kappa) a λ (lambda), přičemž pouze ι a κ formy mají rosolotvorné vlastnosti [2]. Karagenany nacházejí využití při výrobě mléčných výrobků, kde interagují s bílkovinami a vytvářejí stabilní gely. Stejně tak jsou užitečné při výrobě želé cukrovinek s přídavkem sušeného mléka, kde díky této schopnosti vytvářejí pružné a pevné gely [38].

2.2.3.4 Želatina (E 441)

Želatina je látka bílkovinného charakteru, která se získává hydrolýzou kolagenu z tkání, jako jsou kůže a kosti skotu a prasat. Je vysoce ceněna v potravinářském průmyslu díky svým příznivým vlastnostem – je bezbarvá, bez chuti a zápachu a má schopnost tvořit termoreverzibilní gely. Gely tvořené želatinou jsou typicky mnohem pevnější než gely výše zmíněných látek [2, 21].

V cukrářském průmyslu se želatina běžně používá při výrobě želé cukrovinek, kde působí jako želírující činidlo, dodávající výrobkům specifickou texturu. Před vlastním použitím je nutné želatinu nechat nabobtnat ve vodě, její rozpouštění následně probíhá při teplotách kolem 70 °C. Po ochlazení se vytváří gel. Avšak při dlouhodobém zahřívání na vyšší teploty ztrácí želatina své želírující schopnosti, proto je nezbytné během výroby teplotu sledovat [21].

Kromě toho se želatina může používat jako pěnotvorná látka nebo jako prostředek zabraňující krystalizaci sacharosy, což je důležité zejména při výrobě amorfních cukrovinek, jako jsou marshmallow nebo toffe. Želatina je komerčně dostupná ve formě plátků nebo prášku, podobně jako agar [21].

2.2.3.5 Pektiny (E 440)

Jedná se o polysacharidy, které jsou přirozenou součástí buněčných stěn vyšších rostlin, běžně nalezeny v ovoci, jako jsou jablka, slupky citrusových plodů a některé kořenové zeleniny. Tyto látky jsou kysele extrahovány a vytváří gely ve vodném prostředí, kde klíčovým faktorem je celkové pH roztoku [2].

Pektiny mohou být rozděleny na vysokoesterifikované (HM) a nízkoesterifikované (LM) typy, které se liší stupněm esterifikace karboxylových skupin. HM pektiny pro tvorbu gelů vyžadují přítomnost cukru, který napomáhá dehydrataci gelu, a jejich stupeň esterifikace je vyšší než 50 %. LM pektiny naopak tvoří gely v přítomnosti iontů vápníku či jiných iontů alkalických zemin, stupeň esterifikace však nedosahuje nad 50 % [2, 21].

Pektiny jsou v potravinářství využívány pro výrobu želé cukrovinek, džemů a želatinových dezertů, kde fungují jako alternativa k želatině [2].

2.2.4 Vosky a laky

Leštící látky, mezi které se vosky a laky řadí, jsou v potravinářském průmyslu nezbytné pro dosažení lesklého, atraktivního vzhledu a zároveň tvoří ochranný povlak u potravin různých druhů, např. při výrobě cukrovinek, dražé, ořechů či doplňků stravy. Nařízení EU č. 1333/2008 stanovuje, které látky jsou pro tyto účely povoleny pro využití v potravinářství [2, 20].

Vosky, tvořené estery vyšších mastných kyselin s vyššími alkoholy, představují základní složku leštidel používaných při výrobě dražé a jako mazadla při výrobě komprimátů. Dělí se na živočišné, rostlinné a syntetické, přičemž mezi živočišné patří například včelí vosk (E901) a vosk z ovčí vlny, zatímco mezi rostlinné patří například karnaubský vosk (E 903) získávaný z listů tropické palmy *Copernicia cerifera*. Významný je i kandelilový vosk (E 902) z rostlin rodu *Euphobiaceae* a syntetické vosky jako např. Microvax (E 907) [2, 21, 22].

Laky mají v cukrářském průmyslu především ochrannou funkci, zajišťují stabilitu a dlouhodobou kvalitu potravin. Často se pro tyto účely využívají šelak (vyměšován brouky rodu *Lachardia)*, sandarak (z cypřišovité dřeviny) a benzoe v ethanolických roztocích [2, 39].

2.2.5 Barviva

Barviva představují klíčovou roli v estetické prezentaci výrobků. Správný výběr a použití barviv nejenže dokáže zlepšit vizuální atraktivitu výrobků, ale také může ovlivnit vnímání jejich celkové kvality. Navíc, barviva zlepšují percepční zážitek z chuti (například červené zbarvení produktu může posílit vnímání jahodové chuti).

Zařazují se taktéž mezi aditivní látky, jejich použití v potravinách je proto také regulováno nařízením EU č. 1333/200, které určuje, jaká barviva a v jakém množství je možné použít v potravinách [20]. Mohou být přírodního původu nebo syntetická, přičemž každá skupina má své specifické vlastnosti a aplikace. Dostupná jsou ve formě prášků, gelů, roztoků či laku [2].

2.2.5.1 Přírodní barviva

Jako barviva přírodního původu jsou označovány látky z různých zdrojů – rostlinných, živočišných i nerostných, které přispívají ke změně barvy produktu. Je zajímavé, že sloučeniny patřící do této kategorie, mají často kromě barevného vlivu i důležitou roli v biochemických dějích. Konkrétně se jedná o karotenoidy, chlorofyly, flavonoidy a různá pyrollová barviva. Karotenoidy, například karoten (E 160a), jsou rozšířené v rostlinách jako mrkev, rajčata, meruňky a přispívají ke vjemu žluté a oranžové barvy. Chlorofyly (E 140) jsou zelená barviva nacházející se ve fotosyntetizujících rostlinách. Flavonoidy, jako např. anthokyany (E 163), získávané z kořene červené řepy nebo červeného zelí či ibišku, jsou odpovědné za různé odstíny červené, modré a fialové [2, 40].

Košenila (E 120) je příkladem barviva živočišného původu, získávaného z extraktů hmyzu *Dactylopius coccus*. Mezi barviva nerostného původu patří například titanová běloba (E 171) či hliník (E 173), získávané z minerálů nebo rudy [22].

Jejich použití v potravinách má několik výhod, především zdravotní nezávadnost, ale také třeba kladné reakce spotřebitelů, vzhledem k rostoucímu zajmu o potraviny přírodního a organického původu. Nicméně je nutné poznamenat, že přírodní barviva mají také své nevýhody. Jsou chemicky méně stabilní a jejich odstíny mohou být velmi proměnlivé a různorodé, což může negativně ovlivnit vzhled výrobku. Navíc mohou do výrobku přenášet nepříjemnou chuť nebo vůni. Závažným rizikem je možnost kontaminace produktu nežádoucími toxickými kovy, herbicidy, insekticidy nebo mikroorganismy, což může vést k mikrobiálnímu znehodnocení produktu [41].

2.2.5.2 Syntetická barviva

Syntetická barviva, vyráběná z přečištěných ropných produktů, nabízejí vyšší barvivost a širší spektrum barev než přírodní barviva. Nesmí však ovlivňovat žádné další vlastnosti výrobku, kromě jeho barvy [2, 41].

Jejich hlavní výhodou je vysoká stabilita, snadná aplikace a nízká cena. Avšak existují obavy ohledně jejich bezpečnosti, zejména při nadměrném užívání, které může způsobovat zdravotní problémy, jako je hyperaktivita u dětí. Proto je jejich použití v některých typech potravin, především ve výrobcích pro děti, legislativně omezeno nebo zakázáno [20, 22].

V následující Tabulce 4 jsou uvedena syntetická barviva, která jsou v České republice legislativně povolena [20].

Tabulka 4: Syntetická barviva povolená v ČR [20]

Název	Označení – „E-kód“	Barva
Tartrazin	E 102	Citrónově žlutá
Chinolinová žluť	E 104	Žlutá
Žluť SY	E 110	Oranžová
Azorubin	E 122	Modročervená
Amaranth	E 123	Modročervená
Ponceau 4R	E 124	Červená
Erythrosin	E 127	Červená
Červeň 2G	E 128	Modročervená
Červeň Allura AC	E 129	Červená
Patentní modř V	E 131	Zelenomodrá
Indigotin	E 132	Tmavě modrá
Brilantní modř	E 133	Zelenomodrá
Zeleň S	E 142	Zelená
Čerň BN	E 151	Černá
Hněď FK	E 154	Hnědá
Hněď HT	E 155	Hnědá
Litholrubin BK	E 180	Červená

2.2.6 Aromata

Jedná se o látky speciálně vytvářené k aromatizaci potravin a řadíme sem jak vonné, tak chuťové složky. Tento důležitý komplexní vjem chutě a vůně se jinak nazývá také flavour. Aromata celkový flavour produktu zlepšují zdokonalením či zesílením vůně, sekundárně i chuti. Mohou dokonce vytvářet aroma, které by se ve výrobku přirozeně nevyskytlo [2, 41].

Z hlediska původu je lze rozdělit na přírodní a umělá. Přírodní aromata zahrnují látky získané z rostlinných, živočišných a nerostných zdrojů, jako např. silice, šťávy a destiláty, zatímco umělá aromata jsou čistě syntetického původu [2, 42]. Vůně i chuť aromatických látek bývá velmi intenzivní, proto je dostačující aplikace pouze 10 g aromatické látky na ochucení 100 kg cukrovinkové hmoty. Mezi nejběžnější příklady patří aroma citrónové, čokoládové, mandlové a vanilkové. Komerčně jsou dostupná v různých formách – od práškových po tekuté, pasty a gely, což umožňuje jejich flexibilní použití v široké škále cukrovinek [2].

Byť nejsou aromatické látky upravovány legislativou aditivních látek, jelikož se využívají v kombinaci různých vzájemných směsí, jejich použití je předmětem regulací. Je důležité, aby byla používaná aromata bezpečná a zdravotně nezávadná, což je zajištěno směrnicemi EU. Největší pozornost je věnována možnému vlivu syntetických aromat na zdraví, zejména u výrobků pro děti [2].

Chuťové látky

Tyto látky jsou obvykle polární povahy, ve vodě rozpustné a netěkavé, interagující s chuťovými receptory v ústní dutině. Člověk je schopen vnímat široké spektrum chutí, které zahrnují nejen pět základních chutí – sladkou, slanou, kyselou, hořkou a nově i umami – ale také rozšířené chuťové vjemy jako trpkou a pálivou chuť. Tyto chutě jsou vnímány speciálními receptory umístěnými převážně na jazyku, přičemž každá základní chuť má své unikátní receptory. Naopak chutě jako umami, trpká a pálivá jsou vnímány celou ústní dutinou. Výsledný chuťový vjem po konzumaci potravin je dán kombinací těchto chutí, přičemž složitost a rozmanitost chutí v potravinách vzniká interakcí různých chuťových složek a jejich vzájemným působením [42].

Vonné látky

Vonné látky jsou těkavé a působí na čichové receptory, ale mohou ovlivňovat i chuťový prožitek. Jedná se o málo polární a nepolární těkavé látky, tvořené širokým spektrem organických sloučenin. Dle způsobu vzniku můžeme rozlišit dvě hlavní skupiny vonných látek: primární a sekundární [42].

Primární vonné látky jsou přirozeně obsaženy v rostlinných a živočišných zdrojích, kde fungují jako sekundární metabolity. Nejvýznamnější skupinou primárních vonných látek v cukrovinkách jsou terpeny. Tyto sloučeniny jsou odvozeny od základní stavební jednotky isoprenu a mají různé aromatické vlastnosti. Množství vonných látek v organismech se liší v závislosti na genetických predispozicích daného druhu [42].

Sekundární vonné látky se vyskytují ve formě senzoricky neaktivních prekurzorů a jejich aktivace může probíhat prostřednictvím různých procesů. Tyto látky se vytvářejí během skladování a zpracování potravin, interakcí s enzymy nebo jako produkty metabolismu mikroorganismů během fermentace. Jedním z typických příkladů je tzv. Maillardova reakce, která probíhá mezi redukujícími cukry a aminoskupinami aminokyselin. Iniciována je zahřátím, např. pražením, využívaným pro dosažení charakteristických senzorických vlastností např. oříšků nebo kávových zrn [41, 42].

Některé vonné látky mohou mít také pozitivní účinky na lidský organismus. Například menthol, který má protizánětlivé vlastnosti, může být použit v cukrovinkách k vytvoření osvěžujícího a léčivého efektu. Tyto pozitivní vlastnosti mohou zvýšit atraktivitu daných výrobků na trhu [41, 42].

Aromatické látky v cukrovinkách

Samakradhamrongthai a Jannu [43] se ve svénstudii zaměřili na zkoumání vlivu stévie, xylitolu a kukuřičného sirupu na fyzikální, fyzikálně-chemické a senzorické vlastnosti

žvýkacích bonbónů z tamarindu *(Dialium indum l.)*. Cílem bylo optimalizovat obsah těchto sladidel pomocí metody plochy odezvy (RSM) a provést analýzu hlavních aromatických látek pomocí plynové chromatografie (GC). Výsledky ukázaly, že nejvíce zastoupené aromatické složky byly limonen, furaneol, furanoid, linalool, nonanal, cinnamylacetát a geranylacetát. Dále bylo zjištěno, že optimalizované žvýkací cukrovinky s obsahem stévie a xylitolu mohou snížit obsah cukru až o 60 %, přičemž jejich senzorické hodnocení zůstává stále pozitivní. To může do budoucna naznačovat efektivní nahrazení cukru při výrobě ovocných žvýkacích bonbónů.

Jiná studie Piccone a kol. [44] se specializovala na vliv složení želatinových cukrovinek (za použití různých želírujících látek a cukrů) na uvolňování a senzorické vnímání aromatických látek. Konkrétně bylo zkoumáno uvolňování a kinetika vybraných aromatických sloučenin z modelových cukrovinek s jahodovou příchutí. Byly vybrány čtyři specifické aromatizující sloučeniny (ethylhexanoát, ethylbutyrát, methylcinamát, ethylacetát) reprezentující různé polární vlastnosti. Výsledky naznačovaly, že typ želírující látky a obsah cukru výrazně ovlivňují uvolňování aromatických látek v cukrovinkách.

Zajímavá je i studie s názvem "Studie uvolňování aroma čokoládového želé na základě bionického žvýkání"[45], která se zabývala analýzou, jakým způsobem se aroma uvolňuje z pěti vzorků čokoládového želé během žvýkacího procesu. Výzkum používal bionický žvýkací robot k simulaci lidského žvýkání a zkoumal, jak různé faktory, jako je obsah kakaových bobů a želatiny, ovlivňují uvolňování aroma. Zjistilo se, že počet žvýkacích cyklů a doba žvýkání v ústech měly pozitivní vliv na množství uvolněného aroma, zatímco rychlost žvýkání mělo vliv negativní.

Studie QI a kol. [46] zkoumala rozdíly ve složení těkavých látek mateří kašičky (royal jelly – RJ) produkované různými druhy včel. Byly analyzovány vzorky RJ od včel specializovaných na jeho produkci a dvou neselekčních druhů italských včel z Itálie a USA. Pomocí metody plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) bylo identifikováno 37 složek, 5 aldehydů, 5 esterů, 5 alkanů, 14 alkoholů a fenolů, 4 ketony a 4 jiné složky. Výsledky ukázaly, že včely selektované pro zvýšenou produkci RJ mají odlišný profil těkavých složek oproti neselektovaným italským včelám.

2.2.7 Kyseliny

V cukrářském průmyslu jsou používány regulátory kyselosti, nejen pro dosažení celkově správného chuťového profilu, ale také zamezují nežádoucím chemickým procesům. Kyseliny navíc snižují pH výrobku, což napomáhá snadnější tvorbě gelů a také udržet produkt mikrobiálně stabilní. Tyto regulátory jsou původem především přírodní organické kyseliny a jejich soli, dodávají kyselou chuť, ale hrají důležitou roli i v udržování kvality a bezpečnosti potravin [2].

Nejčastěji využívané kyseliny v cukrovinkářství zahrnují kyselinu citrónovou (E 330), jablečnou (E 296), mléčnou (E 270), vinnou (E 334), octovou (E 260) a askorbovou (E 300),

stejně jako jejich soli, jako je octan draselný (E 261) nebo vápenatý (E 263). Kyselina citronová je oblíbena pro svůj osvěžující účinek a podporu citrusových příchutí. Kyselina mléčná, s jemnější chutí, se využívá v ovocně laděných cukrovinkách, zatímco kyselina jablečná je vhodná pro receptury s intenzivně sladkými sladidly, kde pomáhá sladkost vyvážit. Směs kyseliny vinné a krystalické sacharosy se využívá pro suché kandýrování [20, 22].

Obvykle se používají v koncentraci do 1 %, přičemž nejdůležitější součástí výroby jsou při přípravě želé, kandytů a dražé, protože přispívají k vytvoření charakteristické chuti želé cukrovinek, jejich správný výběr a následné použití je klíčové pro úspěšnou výrobu kvalitních nečokoládových cukrovinek [2].

2.3 Technologie výroby nečokoládových cukrovinek

Jak již bylo zmíněno výše, v oblasti technologie výroby nečokoládových cukrovinek lze cukrovinky rozdělit podle stavu sacharosy ve kterém se ve výrobku nachází: cukrovinky s nevykrystalizovanou (amorfní) a s vykrystalizovanou sacharosou [2]. Tato práce se zabývá želé cukrovinkami, proto bude této skupině věnována hlavní pozornost a bude popsána podrobněji.

2.3.1 Cukrovinky s vykrystalizovanou sacharosou

Cukrovinky s vykrystalizovanou sacharosou obsahují, jak již naznačuje název, v konečném výrobku krystalky cukru a jsou typické svou velmi jemnou a krémovou texturou. V procesu výroby se významně liší varným poměrem, který je zde ve prospěch sacharosy. Nejtypičtější zástupce této skupiny je fondán (z francouzského *sucre fondant* – rozplývající se na jazyku), jehož krystalizace probíhá během intenzivního míchaní za stálého ochlazování.

Dále sem řadíme marcipán, vyráběn ze směsi sladkých, jemně drcených mandlí a sacharosy či komprimáty, vznikající lisováním ochucených a obarvených práškovitých cukrových směsí s pojidlem, jako např. škrobový sirup nebo pektin [2].

2.3.2 Cukroviny s nevykrystalizovanou sacharosou

Výroba těchto druhů cukrovinek zahrnuje použití glukosového sirupu nebo invertního cukru, sloužící k tomu, aby zabránily krystalizaci sacharosy tím, že snižují její rozpustnost. Vyznačují se vysokým obsahem cukru a nízkým obsahem vody. Výsledné produkty mohou být měkké i tvrdé konzistence a patří sem kandyty, karamely, želé, gumovité a šlehané cukrovinky [2].

2.3.2.1 Kandyty

Pochoutky charakterizované tvrdou texturou a sklovitým vzhledem jsou typicky vytvořeny z kandytové hmoty. Tato hmota obsahuje minimální množství vody (1-3 %) a vyrábí se odpařením cukrosirupového roztoku, jehož obsah vody se pohybuje kolem 20 %. Proces odpařování je regulován tak, aby nedošlo ke krystalizaci sacharosy před ztuhnutím hmoty [1, 2]. Kandyty se vyrábějí v různých tvarech a barvách, jak s náplní, tak i bez ní, a bývají kategorizovány do tří druhů: roksy, dropsy a furé [2].

2.3.2.2 Karamely

Karamely jsou specifickým druhem cukrovinek, jejichž hlavním znakem je plastická konzistence, která přispívá k jejich žvýkavému charakteru. Výrobní proces karamelů je podobný výrobě kandytů, nicméně se liší použitím dalších surovin jako kondenzované mléko, máslo a ztužený tuk, který je emulgován v karamelové hmotě, což dodává výslednému produktu vláčnost [2, 47].

Kromě těchto základních surovin mohou být do karamel přidány i další ingredience, jako je káva, kakao, vanilin a další, což umožňuje vytvářet rozmanité chuťové varianty [2].

2.3.2.3 Šlehané cukrovinky

Šlehané cukrovinky jsou typické svou lehkostí a nadýchanou texturou, která je výsledkem šlehání cukerného roztoku ve šlehači s pěnotvorným činidlem (vaječný bílek nebo želatina). Pěna v těchto cukrovinkách nejen zvyšuje objem a snižuje hmotnost, ale také zlepšuje senzorické vlastnosti pochoutky tím, že se díky porézní struktuře, kterou pěna vytváří, stávají rozplývavými v ústech [2, 21].

2.3.2.4 Gumovité cukrovinky

Mimo obvyklých surovin, jako škrobový sirup a sacharosa, se pro výrobu žvýkaček používají i látky, které této pochoutce dávají charakteristickou gumovitou konzistenci, k čemuž se nejčastěji používá želatina či arabská guma. Pro lepší žvýkatelnost a udržení vláčnosti se navíc přidává i sorbitol a glycerin [2]. Konečný produkt se může lehce lišit dle různorodosti přísad, jež jsou pro výrobu použity [48].

Žvýkačky jsou mezi lidmi po celém světě velmi oblíbené, což dokládá jejich masivní produkce, která dosahuje až 1,74 bilionu kusů ročně, a jejich široká spotřebitelská základna. Kromě toho, že jsou žvýkačky konzumovány jako pochoutka, existují i speciální druhy žvýkaček, které mají využití v oblasti zdravotnictví. Můžou být určeny k pomoci při odvykání kouření, snižování rizika zubního kazu nebo dokonce jako nosič léčivých látek [48, 49].

V současné době lze dohledat pouze omezené množství studií věnujících se žvýkačkám a jejich technologické výrobě. Nicméně do budoucna má tato oblast potenciál přilákat pozornost vědeckého světa, nejen díky vysoké poptávce a přínosu pro lidské zdraví, ale také svou významnou hodnotou na trhu se žvýkačkami, jehož hodnota dosahuje téměř 25 miliard dolarů [48].

2.3.2.5 Želé

Želé cukrovinky jsou sladkosti s konzistencí gelu, jenž vniká přídavkem želírujících látek jako je pektin, agar, škrob nebo želatina [1]. Dalšími ingrediencemi jsou sacharosa, škrobový sirup, kyseliny, aromatické látky, popř. barviva [2].

Tyto cukrovinky lze rozdělit do dvou hlavních skupin: ovocné želé, vyráběné s použitím přírodních ovocných dření, pomazánek či šťáv, které slouží zároveň jako rosolotvorné činidlo, a želé s ovocnou příchutí, kde se jako želírující látky využívají agar, želatina, pektin nebo škrob

(nativní i modifikovaný). Použití želírující látky se liší podle požadavků na vlastnosti konečného výrobku [2, 21].

Agarové želé

Agar, získávaný z mořských řas, se nejdříve namáčí se ve vodě při 85 až 90 °C, než dojde k rozpuštění, a následně ke vzniku homogenního koloidního roztoku. Poté se do směsi přidá sacharosa a roztok se zahřívá až na teplotu 105 až 107 °C, až poté dochází k přídavku škrobového sirupu a ochlazení roztoku na 60 °C. Následuje přidání barviv, kyselin a aromatických látek. Hmota se poté nalévá do škrobových forem a chladí do ztuhnutí [2]. Hotové produkty podstupují kandýrování, což je proces, při kterém se obalují cukrem nebo cukrovou polevou; může být aplikován pro konzervaci, zlepšení textury, či zvýšení estetické atraktivity [50, 51].

Pro cukrovinky tento proces obvykle zahrnuje obalení hotového produktu tenkou vrstvou cukru nebo glazury, což umožňuje vytvoření křupavého povrchu a zlepšení chuťového zážitku. Mimo jiné dokáže kandýrování zabránit i potenciálnímu slepení jednotlivých cukrovinek [50].

Želatinové želé

Výroba začíná přípravou směsi roztoku sacharosy a škrobového sirupu v poměru 2:1 nebo 1:1, který se následně přivede k bodu varu (113 až 121 °C). Želatina se rozpouští ve vodě o teplotě 54 až 60 °C za stálého pozvolného míchání. Poté se obě složky smíchají, přičemž je důležité, aby výsledný cukerný roztok nepřesáhl teplotu 100 °C, jelikož by se narušily želírující schopnosti želatiny. Směs se poté vylévá do forem, obvykle škrobových, aby získala různé tvary.

Senzorická hodnota želé je také ovlivněna pH, které by se mělo pohybovat v rozmezí 3,8-4,0, což obvykle zajistí přídavek kyseliny citronové, která zde slouží jako regulátor kyselosti [2]. Povrch cukrovinky může být nakonec upraven kandýrováním či nastřikováním tenké vrstvy oleje nebo vosku, za účelem zvýšení atraktivity pro spotřebitele [2, 51].

Škrobové želé

Tento druh želé (známý také pod názvem rahat) je vyráběn ze suspenze sacharosy, škrobu ve vodě a škrobového sirupu. Škrobová zrna absorbují vodu a při zahřívání bobtnají, až se rozpadnou a vytvoří roztok, který se ochladí a vznikne gel se žvýkavou, lehce lepivou konzistencí. Finální tuhnutí probíhá ve škrobových formách, následováno povrchovou úpravou, stejně jako předešlé druhy, kandýrováním [2, 21].

Pektinové želé

Výroba tohoto želé je nejnáročnější a nejsložitější. Je nezbytné striktně dodržovat všechny podmínky receptu i technologického postupu. Práškový pektin se nejprve smíchá se sacharosou a poté rozpustí ve vodě. Pro zajištění efektivního rozpuštění látky, by koncentrace cukru v roztoku neměla překročit 20 %. Po přivedení k varu se přidává škrobový sirup a část z celkového množství kyseliny. Směs se odpařuje do okamžiku, kdy se obsah sušiny pohybuje mezi 75 až 79 %. Po ochlazení se přidává zbytek kyseliny, popř. další aditiva. Hmota se pak ihned nalévá do škrobových forem, jelikož okyselené pektinové želé velice rychle podléhá

tuhnutí. Výsledná konzistence pektinové cukrovinky je extrémně jemná a řadí se mezi nejkvalitnější druhy želé [2, 51].

Výběr dané želírující látky a poměrů jednotlivých složek pro výrobu významně ovlivňuje vlastnosti finálního produktu, jako je konzistence, chuť a žvýkatelnost. Každý typ želé poskytuje unikátní chuťový zážitek a může být populární mezi různými věkovými skupinami. Vedle tradičních ovocných příchutí se výrobci také zaměřují na inovativní kombinace chutí, aby vyhověli rostoucí poptávce po nových a zajímavých produktech [52].

2.4 Charakteristika rostlinného materiálu

Jak bylo na počátku zmíněno, v experimentální části této práce byl aplikován extrakt z byliny *Filipendula ulmaria,* česky tužebníku jilmového, do vyrobených želé cukrovinek. Vzhledem k jeho vysokému obsahu těkavých aromatických látek a dalších nutričně cenných biologicky aktivních látek, se analýzou tužebníku již zabývalo hned několik studií.

Bespalov a kol. [53] studovali účinky *Filipendula ulmaria* na buňkách z nádoru prsu, kde vykázal značné snížení četnosti a výskytu zhoubných nádorových buněk.

Mast z této byliny při výzkumu využili Peresun'ko a kol. [54] pro útlum cervikální dysplazie, přičemž ke zlepšení došlo v 67 % léčených případů.

Amosova a kol. [55] využili ethanolové extrakty (70 %) v dávkách 50 a 100 $mg \cdot kg^{-1}$, které vykázaly u myší s Lewisovým karcinomem plic (LLC) zmenšení plochy metastáz téměř o polovinu.

Gastroprotektivní účinky byly hodnoceny na krysím modelu ve studii Samardzic a kol. [56]. Krysám byla ethanolem vyvolána žaludeční léze. Jednu hodinu před aplikací ethanolu byl jedné skupině krys podán extrakt *F. ulmaria* (100–300 $mg \cdot kg^{-1}$). Hodinu po lézi byla zvířata usmrcena a bylo zjištěno, že poškození žaludku u krys léčených tužebníkem bylo velmi malé. To poukazuje na vynikající protektivní účinnost ve srovnání s kontrolními skupinami (bez podání extraktu), u nichž poškození žaludku bylo výrazně horší.

Porovnání antioxidační aktivity tužebníku a hlohu provedla studie Sroka a kol. [57], kdy tužebník vykazoval výrazně vyšší účinky.

Z potravinářského odvětví Harbourne a kol. [58] optimalizovali zisk extraktu *F. ulmaria* metodou HPLC, bohatého na fenolické látky a zároveň příjemné barvy, za účelem jeho aplikace do nápojů.

Neagu a kol. [59] zase využili neuroprotektivního potenciálu byliny a vytvořili studii zabývající se jeho inhibičními účinky na acetylcholinesterázu a tyrosinázu a antioxidační aktivitou, přičemž výsledky byly velmi pozitivní.

2.4.1 Tužebník jilmový

Tato vytrvalá bylina, dosahující výšky do 2 metrů, je rozšířená v Asii, Evropě i Severní Americe a patří do čeledi růžovitých *(Rosaceae)*. V České republice se nachází různorodě; od nížin po podhůrská pásma. Preferuje spíše vlhké prostředí jako mokřady, prameniště či lužní lesy [60].

Už od dávných dob byl tužebník, díky obsahu bioaktivních látek, používán nejen jako léčivá bylina, ale i k aromatizaci prostorů. Svou vůní i chutí totiž jemně připomíná příjemně hořké mandle. Do dnešní doby se využívá i při dochucování vín, piva nebo octa a jeho květy se zpracovávají do džemů a marmelád [61, 62].

Rostlina obsahuje poměrně velké množství derivátů kyseliny salicylové, která vykazuje analgetické, antiflogistické a antipyretické vlastnosti. Čaj z květů působí diureticky a pomáhá při nachlazení. Celkově působí bylina sedativně a přináší úlevu od stresu a psychického napětí [61, 63].

2.4.1.1 Aromatické látky tužebníku jilmového

Obsahem aromatických látek v tužebníku se již zabývala studie Kumar a kol. [64]. Identifikovali velké množství fenolických kyselin, vyskytující se v nadzemních částech rostliny, např. kyselinu skořicovou, kyselinu kávovou a její deriváty, kyselinu kumarovou a ferulovou, vanilovou a veratrovou, které mají terapeutický potenciál.

Olennikov a kol. [65] izolovali fenolické kyseliny z květů a listů *F. ulmaria* pomocí metody HPLC.

Studie Brunke a kol. [66] zaměřující se na esenciální oleje tužebníku identifikovala 96 sloučenin. Kromě salicylátů, hexanalu či benzaldehydu se jednalo také o terpeny, konkrétně limonen, linallol, menthol, menthon, α-terpineol, carvon, piperiton, geraniol, karvakrol a thymol.

Významné zastoupení v této bylině mají také třísloviny (taniny), patřící mezi polyfenolické látky. Jejich trpká a svíravá chuť vyvolává na jazyku drsný a suchý pocit a předpokládá se, že tvorba tříslovin v rostlině slouží jako její ochrana před infekcí, hmyzem i zvířaty [67, 68]. Výzkum autorů Bijttebier a kol. [69] prokázal přítomnost především kyseliny ellagové, ellagitaninů, rugosinů, tellimagrandinů, katechinů a epikatechinů. Jednalo se o polární extrakty z nadzemní částí byliny.

2.4.1.2 Látky s antioxidačním a antimikrobiálním potenciálem

Jedny z nejdůležitějších skupin antioxidačních látek jsou flavonoidy a glavonové glykosidy. Patří mezi biologicky aktivní látky, jež dodávají rostlinám léčivé účinky [59]. Na základě výzkumu obsahu flavonoidů Kikuchi a kol. [70] a Kalkhorani a kol. [71] zjistili značné zastoupení především rutosidu, spiraeosidu, kvercetinu, isoquercitrinu, hyperosidu [61].

Blazics a kol. [72] identifikovali 6 salicylátů z methanolového extraktu *F. ulmaria* pomocí metody LC-DAD-MS-MS (kapalinová chromatografie s diodovým polem a tandemovou hmotnostní spektrometrií) s trojitým kvadrupólem. Konkrétně se jednalo o kyselinu salicylovou, salicylalkohol, methylsalicylát, salicin, monohexosid a hexosid kyseliny salicylové. Tato kyselina a její deriváty jsou významnou složkou extraktů této byliny, jelikož vykazují analgetické, protizánětlivé a antikoagulační účinky [73].

Dle studie Woods-Panzaru a kol. [74] nebyla prokázána signifikantní antimikrobiální aktivita vodného extraktu tužebníku proti patogenům a plísním na krevním agaru.

Katanić a kol. [75] se zaměřili na bioaktivní a polyfenolické látky. Studie využila methanolové extrakty *Filipendula ulmaria*, a to z nadzemních částí rostliny (FUA) a kořenů (FUR). Byly analyzovány antimikrobiální vlastnosti i antioxidační aktivita těchto extraktů, jejich stabilita v různých pH a různých teplotních podmínkách. Oba extrakty prokázaly podobnou aktivitu proti většině testovaných bakterií a plísní, přičemž nejcitlivějšími bakteriálními druhy byly *E. coli* a *E. faecalis*. Oba extrakty se taktéž prokázaly teplotně stabilní.

Co se týče obsahu fenolických kyselin a flavonoidů kořenový extrakt (FUR) obsahoval vyšší množství celkových fenolických sloučenin (287,77 $mg_{GAE}\cdot g^{-1}$) ve srovnání s nadzemní částí (FUA – 249,53 $mg_{GAE}\cdot g^{-1}$). Extrakt FUR měl také vyšší celkovou antioxidanční kapacitu (494,67 $mg_{AAE}\cdot g^{-1}$) ve srovnání s FUA (419,56 $mg_{AAE}\cdot g^{-1}$), přičemž FUR také prokázal lepší schopnost zachytávání volných radikálů v testu s ABTS [75].

Fenolické látky kvercetin-3D-glukosid, luteolin-7-glukosid, hyperosid, astragalin a kyselina gallová byly identifikovány pomocí metody RP-HPLC. Studie odhalila vysokou antioxidační aktivitu výtažků *F. ulmaria*, což naznačuje jejich možný přínos pro zdraví, například v boji proti oxidačnímu stresu. Tato aktivita byla pozorována v extraktech připravených různými metodami, včetně vodných a alkoholových extrakcí, avšak ethylacetátové extrakty rostliny vykazovaly pouze minimální antioxidační aktivitu [76].

Pomocí metody TLC a papírové chromatografie byla ve studii Shilova a kol. [77] v extraktech této byliny identifikována přítomnost různých fenolických sloučenin, včetně kvercetinu a jeho glykosidů, dihydrokvercetinu, apigeninu, rododendrolu, eskuletinu, kyseliny m-hydroxybenzoové, salicylové, anisové, galové, gentisové, ferulové, chlorogenové a kávové. Pro studium antioxidačních vlastností byla využita metoda katodové voltametrie, ta umožňuje měřit kinetické parametry antioxidační aktivity na základě schopnosti extraktů redukovat kyslík ve specifickém elektrochemickém prostředí. V této studii prokázal nejlepší antioxidanční aktivitu 95% etanolový extrakt z tužebníku (s hodnotou kinetického parametru K=1.170 ± 0.051 μmol/litr·min).

2.5 Metody stanovení aromaticky aktivních látek v cukrovinkách

Stanovení těkavých aromatických látek lze provádět pomocí různých metod, přičemž nejčastěji se využívá analytických technik jako jsou plynová chromatografie (GC), plynová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií (GC-MS), vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) nebo tzv. olfaktometrických technik [78].

Olfaktometrie je metoda, která spočívá v hodnocení a měření intenzity pachů. Tato technika se opírá o lidské čichové vnímání a je prováděna skupinou expertů, kteří jsou speciálně vyškoleni k rozpoznávání a hodnocení různých typů vůní a pachů, tzv. olfaktometrický panel. Často se používá v průmyslových odvětvích nejen potravinářských, ale i v parfumerii nebo při výrobě čistících prostředků, kde je kvalita a charakter vůně klíčovým prvkem produktu. Na rozdíl od chemické analýzy, která poskytuje přesné informace o chemickém složení vzorků,

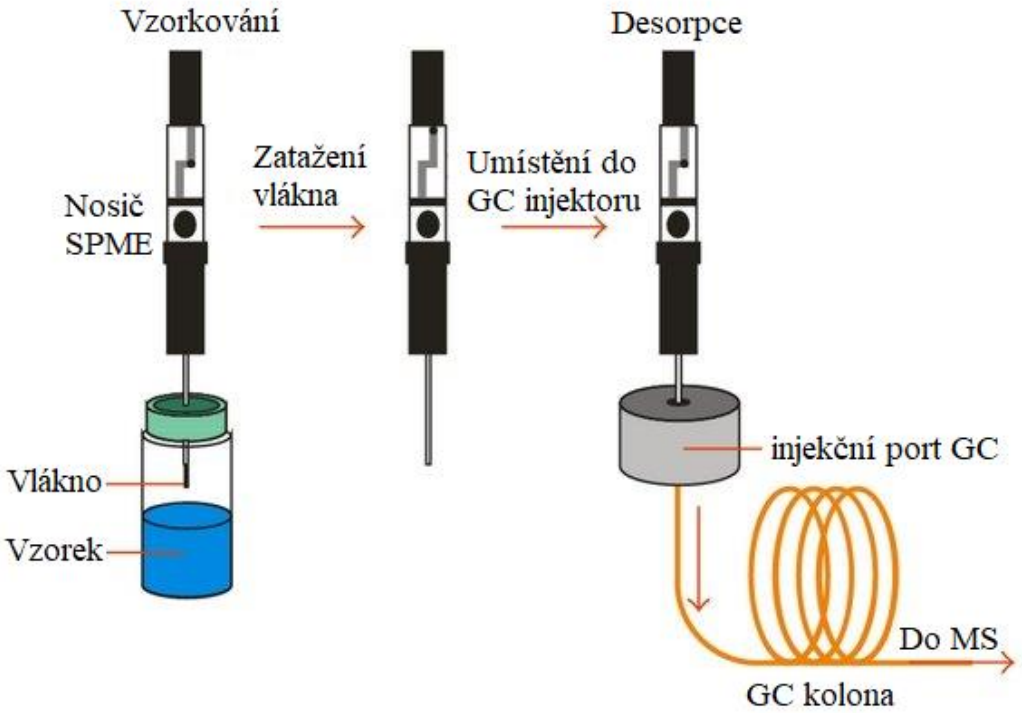
olfaktometrie se zaměřuje přímo na subjektivní lidské vnímání pachu, přesná identifikace látek tak možná není [78].

2.5.1 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (*Solid Phase Micro Extraction; SPME*) je moderní analytická izolační metoda, vyvinutá v roce 1989 Arthurem a Pawliszynem. Tato technika spojuje odběr vzorku, jeho extrakci a zakoncentrování do jednoho kroku bez použití rozpouštědel, což představuje významnou výhodu z hlediska ekologie a efektivity [79].

Základní princip metody SPME spočívá v sorpci analytů na stacionární fázi z polymerů, pokrývající křemenné vlákno, které je umístěno uvnitř kovové jehly. Tato jehla slouží jako ochrana před mechanickým poškozením a zároveň umožňuje snadnou penetraci septa vialky. Vlákno dovede zachytit těkavé i netěkavé látky ze vzorků všech skupenství; plynných, kapalných i pevných. Během procesu měření je jehla s vláknem zasunuta do vzorku, kde dochází k extrakci látek buď přímo ze vzorku (DI-SPME) nebo z prostoru nad jeho hladinou (HS-SPME). Po ustálení sorpční rovnováhy je vlákno zasunuto zpět do jehly a vloženo do nástřikového prostoru chromatografu, kde dochází k desorpci analytu do proudu nosného plynu [80].

Následně jsou látky analyzovány chromatografickými metodami, jako je plynová chromatografie (GC) s hmotnostní nebo UV detekci či kapalinová chromatografie (LC). SPME metoda je široce využívána pro svou jednoduchost, rychlost a nízké detekční limity. Používá se v různých oblastech, včetně environmentální analýzy, potravinářství, toxikologii, forenzního a farmaceutického výzkumu [79, 80].



Obrázek 1: Princip metody mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií [81]

2.5.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie *(Gas Chromatography – GC)* je analytická metoda, která se využívá pro separaci a identifikaci složek ve směsi plynných látek. Technika GC spočívá v principu distribuce analytů mezi mobilní a stacionární fázi. Mobilní fází je obvykle nosný inertní plyn (například dusík, helium nebo vodík), který nese analyty skrz chromatografickou kolonu. Stacionární fáze, obsažená v koloně, je buď kapalná nebo pevná, v závislosti na teplotě a konkrétní variantě chromatografie [82].

Během průchodu kolonou jsou složky směsi oddělovány na základě jejich rozdílné afinity ke stacionární fázi. Separované komponenty jsou pak detekovány pomocí různých citlivých destruktivních detektorů, například hmotnostního spektrometru (GC-MS) nebo plamenově ionizačního detektoru (GC-FID), které převádí fyzikálně-chemické vlastnosti oddělených složek na měřitelný signál, nejčastěji elektrického charakteru. Plynová chromatografie se vyznačuje vysokou separační kapacitou a je vhodná pro analýzu látek s bodem varu do 400 °C, přičemž lze upravit podmínky pro analýzu látek s vyšším bodem varu, až do 800 °C [82].

2.5.2.1 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

GC-MS spojuje plynovou chromatografii s hmotnostně spektrometrickou detekcí a využívá se pro identifikaci a kvantifikaci složek vzorku. Po separaci v plynovém chromatografu jsou jednotlivé složky vzorku analyzovány hmotnostním spektrometrem. V iontovém zdroji spektrometru jsou molekuly analytů ionizovány a převedeny do plynné fáze ve formě pozitivně nabitých iontů, které jsou poté separovány v analyzátoru na základě jejich poměru hmotnosti ku elektrickému náboji (m/z) [82].

Technika GC-MS tedy spojuje výhody obou metod: schopnost separace u GC a identifikace u MS. Analyzovaná látka je charakterizována prostřednictvím retenčního času, získaného plynovou chromatografií, a hmotnostního spektra, získaného následně hmotnostní detekcí, což umožňuje velmi přesnou identifikaci i kvantifikaci jednotlivých složek. Je vhodná pro širokou škálu aplikací, včetně analýzy těkavých organických sloučenin, sledování látek znečišťujících životní prostředí, potravinářských analýz, farmacii a forenzního výzkumu [83].

2.6 Metody stanovení bioaktivních látek

Stanovení antioxidační aktivity, celkového obsahu fenolů a antokyanů ve vyrobených nečokoládových cukrovinkách s přídavkem bylinného extraktu bylo také jedním z cílů této práce.

Jak již bylo popsáno výše v kapitolách *2.4.1.1 a 2.4.1.2, b*ylina *F. ulmaria* či její extrakty mají, dle provedených studií, vysoký obsah antioxidantů, jako jsou karotenoidy, fenoly, flavonoidy, vitaminy, enzymy, aj. Tyto látky chrání organismus před poškozením způsobeným volnými radikály a oxidačním stresem, který může vést k rozvoji běžných onemocnění, jako jsou diabetes, hypertenze, Alzheimerova a Parkinsonova choroba. Pro stanovení antioxidační aktivity se využívají různé metody, mezi které patří spektrometrické, elektrochemické či chromatografické techniky. Výsledky pak mohou poskytnout důležité informace

o ochranných vlastnostech a potenciálních zdravotních přínosech cukrovinky s obsahem daného rostlinného extraktu [84].

2.6.1 Metody založené na eliminaci radikálů

Metody založené na eliminaci radikálů jsou analytické techniky používané k měření antioxidační aktivity látek. Princip spočívá v interakci analyzované látky s volnými radikály, které jsou vytvořeny v testovacím systému či jsou do něj přidávány. Přítomnost a množství antioxidantů v testované látce se projeví schopností tyto volné radikály eliminovat [84].

2.6.1.1 Metoda TEAC

Metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) s využitím modro-zeleného kation-radikálu roztoku $ABTS^{\bullet+}$ [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)] funguje na principu schopnosti antioxidantů v testovaném vzorku redukovat $ABTS^{\bullet+}$ radikál na bezbarvý či méně barevně intenzivní produkt, s tím klesne i měřená absorbance. Míra tohoto snížení je měřena spektrofotometricky, obvykle při absorbanci 734 nm, a je přímo úměrná koncentraci antioxidantů ve vzorku [84].

Výsledky jsou vyjádřeny jako Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), tj. jako koncentrace Troloxu odpovídající antioxidační aktvitě vzorku. TEAC metoda je oblíbená pro svou jednoduchost, rychlost a schopnost měřit různé druhy antioxidantů [84].

2.6.1.2 Metoda s použitím DPPH

Metoda využívající DPPH (2,2-di(4-tert-oktylfenyl)-1-pikrylhydrazyl) spočívá v měření schopnosti antioxidantů neutralizovat $DPPH^{\bullet}$ radikály, což jsou stabilní volné radikály s charakteristickou fialovou barvou. Při reakci s antioxidanty dochází k neutralizaci $DPPH^{\bullet}$ radikálů, doprovázené změnou jejich barvy na světlejší nebo bezbarvou. Tato změna lze se měří spektrofotometricky, obvykle při vlnové délce okolo 515–520 nm. Intenzita zeslabení barvy je přímo úměrná antioxidační kapacitě analyzovaného vzorku [84].

2.6.2 Metody stanovení celkového obsahu fenolů

Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu fenolů (TPC) je metoda využívaná pro kvantifikaci fenolických sloučenin zejména v potravinách a nápojích. Metoda je založena na reakci fenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Fenolické látky činidlo redukují, což vede k tvorbě modrého komplexu [84].

V praxi se k malému množství analyzovaného vzorku přidá Folin-Ciocaltovo činidlo a po krátké inkubační době se přidá alkalický roztok (obvykle roztok hydrogenuhličitanu sodného) k neutralizaci kyseliny. Tím dojde k zesílení modré barvy, jejíž intenzita je přímo úměrná koncentraci fenolů ve vzorku [84].

Intenzita modré barvy je měřena spektrofotometricky, přičemž se obvykle měří absorbance při maximální vlnové délce 760 nm. Toto stanovení umožňuje rychlou a relativně jednoduchou, reprodukovatelnou analýzu celkového obsahu fenolů ve vzorcích. Hodnoty jsou obvykle vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny gallové (GAE – Gallic Acid Equivalent), což je běžný

standard pro kvantifikaci fenolů. Mezi další použitelné standardy pro tuto metodu patří katechiny, kyselina kávová nebo kyselina chlorogenová [84].

2.6.2.1 Metody stanovení antokyanů

Jedná se o přírodní barviva náležející do třídy flavonoidů, které jsou součástí širší skupiny rostlinných polyfenolů. Tyto vodou rozpustné pigmenty jsou zodpovědné za širokou škálu červených, fialových, modrých a někdy i černých barev v ovoci, zelenině, obilovinách a jiných částech rostlin. Jedinečná vlastnost antokyanů spočívá v jejich schopnosti měnit barvu v závislosti na pH prostředí – v kyselém prostředí jsou červené a v zásaditém prostředí nabývají modrých odstínů, což je činí populárními v potravinářském průmyslu [85].

Antokyany jsou rovněž známé svými silnými antioxidačními vlastnostmi, což přispívá k zájmu o antokyany v oblasti zdravotních přínosů, včetně prevence proti kardiovaskulárním i chronickým onemocněním [85].

Dříve byla k detekci antokyanů běžně využívána papírová chromatografie (PC) a chromatografie na tenké vrstvě (TLC). V současnosti se však preferují spektrofotometrické techniky či vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s UV nebo hmotnostní detekcí [86].

pH diferenciální metoda

Jedná se o analytickou metodu, která je používána pro kvantitativní stanovení antokyanů v potravinách a rostlinných materiálech. Spočívá ve spektrofotometrickém měření absorbance extrahovaných antokyanů při různých pH hodnotách, obvykle při pH 1,0 a pH 4,5, přičemž využívá charakteristické změny barvy antokyanů v závislosti na pH [86].

Při pH 1, což je obvykle dosaženo pomocí KCl pufru, antokyany vykazují oxoniovou formu, zatímco při pH 4.5, dosaženého pomocí octanového pufru, se struktura antokyanů mění na hemiketalovou a tím dojde i ke změně jejich absorpčního spektra. Nejprve se absorbance změří při vlnové délce 510-520 nm. V tomto rozmezí anthokyany dosahují maximálního pohlcení záření. Pro druhé měření se používá vlnová délka 700 nm. Rozdíl v absorbanci, který je zjištěn, přímo souvisí s množstvím monomerních antokyanů v roztoku [86].

2.7 Metody stanovení antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální testování je proces, který se zaměřuje na měření schopnosti určitých látek (např. antibiotika, antiseptika nebo přírodní extrakty) inhibovat růst či úplně eliminovat mikroorganismy, jako jsou bakterie, houby, viry a jiní parazité [87]. Metody pro stanovení antimikrobiální aktivity se rozlišují na difúzní a diluční [88].

2.7.1 Difúzní metody

Difúzní metody jsou kvalitativní testy, které spočívají v měření schopnosti látek šířit se a působit v médiu obsahující mikroorganismy. Testovaná látka je aplikovaná na pevné médium a následné podrobena pozorování inhibiční zóny růstu mikroorganismů kolem ní. Inhibiční zóna naznačuje, do jaké míry testovaná látka zabránila růstu mikroorganismů [88].

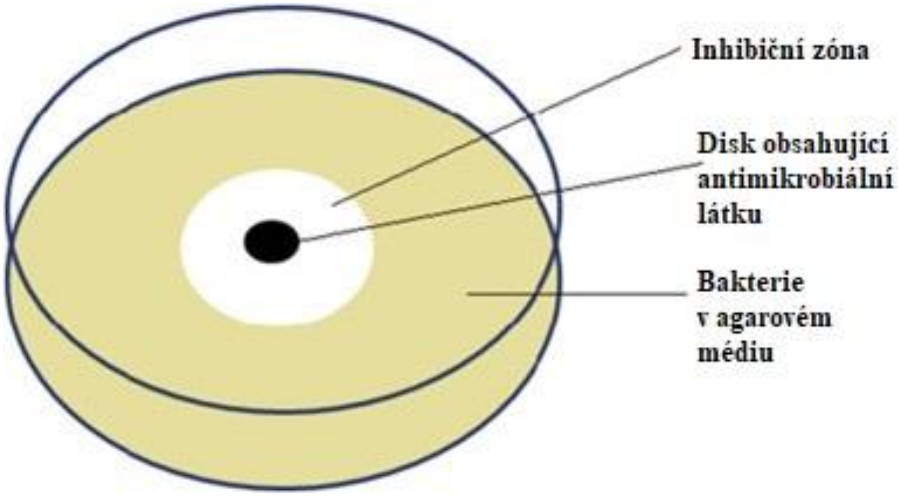
2.7.1.1 Disková difúzní metoda

Disková difúzní metoda, známá také jako metoda Kirby-Bauerova, představuje jednu z nejzákladnějších a nejčastějších metod pro měření antimikrobiální aktivity v mikrobiologických laboratořích [89].

Proces testování začíná naočkováním agarových ploten testovaným mikroorganismem. Následně se na povrch agaru umístí papírové disky o průměru přibližně 6 mm, napuštěné testovanou antimikrobiální látkou. Během inkubace antimikrobiální látka z papírového disku difunduje do agarového média, čímž dochází k inhibici růstu testovaného organismu. Výsledkem této interakce jsou inhibiční zóny kolem disků, které jsou vizuálně patrné na kultivačním médiu [88].

Efektivita antimikrobiální látky je pak posuzována podle velikosti inhibiční zóny kolem disku, tedy oblasti, kde bakterie nejsou schopny růst (viz Obrázek 2). Velikost této zóny je přímo úměrná účinnosti látky proti testovanému kmenu bakterií. Mikroorganismy se podle velikosti vzniklé zóny klasifikují jako citlivé, středně citlivé nebo rezistentní vůči testované antimikrobiální látce [88].

Přestože tato metoda není vhodná pro stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) – kvůli nemožnosti určit přesné množství antimikrobiální látky difundující do média, má i řadu výhod, např. jednoduchost provedení, nízké náklady, schopnost testovat různé druhy mikroorganismů a snadnou interpretaci výsledků [90].

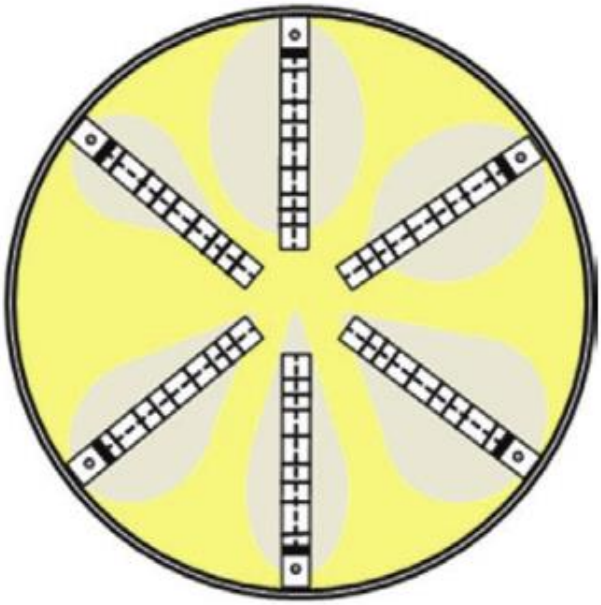


Obrázek 2: Disková difúzní metoda [88]

2.7.1.2 Gradientová metoda

Gradientová metoda, často označovaná jako E-test, představuje mikrobiologickou techniku používanou k určení minimální inhibiční koncentrace (MIC) antimikrobiálních látek. Tato metoda kombinuje výhody jak diluční, tak difúzní testovací metody a dokáže tak poskytnout přesnější a kvantitativní hodnocení citlivosti mikroorganismů [88].

V E-testu se používají plastové proužky, na které je aplikován gradient koncentrací testované antimikrobiální látky. Proužky jsou umístěny na agarové plotny, které byly předem inokulovány testovaným mikroorganismem. Během inkubace difunduje testovaná antimikrobiální látka z proužku do agarového média a vytváří gradient koncentrace v médiu. To umožňuje mikroorganismům růst až do úrovně, kde je jejich růst inhibován konkrétní koncentrací antibiotika [91, 92].



Obrázek 3: Gradientová metoda [92]

Hodnota MIC je určena na základě bodu, kde okraj bakteriálního růstu protíná E-testový proužek. Tento bod poskytuje přesnou kvantitativní hodnotu minimální inhibiční koncentrace potřebné k potlačení růstu mikroorganismu. Gradientová metoda je ceněna pro svou přesnost, a schopnost rychle poskytnout kvantitativní výsledky. Navíc umožňuje souběžné testování několika látek na jednom agarovém médiu, což je výhodné pro rychlé a efektivní laboratorní analýzy [88, 91].

2.7.1.3 Difúzní jamková metoda

Opět se jedná o metodu kvalitativní a je podobná metodě diskové. Na počátku se připraví agarová plotna, na jejíž povrch se rozetře předem vytvořené inokulum se sledovaným mikroorganismem. Následně jsou do agaru asepticky vytvořeny jamky o průměru 6-8 mm pomocí sterilního korkovrtu. Do těchto jamek se pak pipetuje roztok zkoumané antimikrobiální látky o známé koncentraci. Během kultivace antimikrobiální látka difunduje z jamky do okolí a jestliže má sledovaná látka inhibiční účinek, vytvoří se v okolí jamky zóna bez výskytu mikroorganismů, označovaná jako inhibiční zóna. Vyhodnocení se provádí stejně jako u diskové metody měřením těchto inhibičních zón, přičemž čím větší tato zóna je, tím vyšší je i předpokládaná antimikrobiální aktivita [88].

2.7.2 Diluční metody

Diluční metoda je kvantitativní povahy a používá se pro stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) antimikrobiálních látek. Existují dvě hlavní varianty: bujónová (broth microdilution) a agarová (agar dilution) [93].

U bujónové diluční metody se antimikrobiální látka ředí v tekutém médiu, do kterého se inokulují mikroorganismy. Po inkubaci se vyhodnotí, při které nejnižší koncentraci látky nedochází k růstu mikroorganismů, čímž se určí konkrétní MIC. Agarová metoda probíhá na podobném principu, ale antimikrobiální látky se ředí přímo v agarovém médiu. MIC je určena jako nejnižší koncentrace v agaru, při které nedochází k růstu mikroorganismů [92, 93].

Diluční metoda je výhodná svou přesností a možností poskytnout přesné kvantitativní výsledky (MIC). V praxi a výzkumu tyto informace o MIC pomáhají v léčbě infekcí a ve vývoji nových antimikrobiálních léčiv [93].

2.8 Senzorická analýza

Senzorická (neboli smyslová) analýza je metoda vědeckého hodnocení, která se využívá k posouzení, identifikaci a interpretaci organoleptických vlastností produktů prostřednictvím lidských smyslů (chuť, čich, zrak, hmat a sluch). Tato metoda se běžně používá v potravinářství, kosmetice a dalších odvětvích, kde vlastnosti produktu ovlivňují vnímání spotřebitele [94].

Cílem je poskytnout objektivní a kvantitativní data o vnímaných vlastnostech produktu, která mohou sloužit pro kontrolu kvality, vývoj produktu nebo marketingové strategie [94].

2.8.1 Podmínky pro senzorickou analýzu

Pro zajištění co nejpřesnějších výsledků je nezbytné provádět analýzu za pevně stanovených podmínek, které jsou definovány nejen mezinárodními normami, ale jednotlivé testy definuje i česká legislativa. Naplnění těchto podmínek je pro zajištění přesných a spolehlivých výsledků klíčové a jsou definovány tak, aby minimalizovaly potenciálně rušivé faktory [95, 96].

Kritickým aspektem je zajištění objektivity hodnotitelů, vzorky jsou tedy anonymní a hodnotitelé zasedají v samostatných kójích. Samotný prostor pro provádění senzorických testů musí být specificky upraven podle mezinárodních norem (neutrální barevné stěny, regulace teploty, vlhkosti, aj.). Příprava vzorků na servírování probíhá odděleně od testovací místnosti a dbá se na to, aby byly nezávadné a v dostatečném množství [94].

Hodnotitelé jsou pečlivě vybíráni dle jejich fyzických, tak psychických schopností. Zatímco experti mohou být vhodní pro určité typy testů, pro preferenční testování jsou často lepší běžní spotřebitelé bez specifických odborných znalostí [94].

Při samotné degustaci je důležité dodržovat časové rozestupy mezi jednotlivými vzorky, aby nedošlo ke zkreslení chuti následujícího. Pro neutralizaci chuti, jako tzv. chuťový neutralizátor, se používá např. voda či bílé pečivo, v závislosti na typu degustovaných produktů [94].
Jednotlivé metody testování se volí v závislosti na konkrétním cíli senzorické analýzy a typu testovaných výrobků [97].

2.8.2 Metody senzorické analýzy

Metody používané pro senzorickou analýzu můžeme rozlišit do tří hlavních skupin: diskriminační (rozdílové) zkoušky, deskriptivní (popisné) zkoušky a zkoušky používající stupnice a kategorie. Každá z těchto kategorií zahrnuje různé typy testů, které se liší ve způsobu analýzy výsledků [97].

2.8.2.1 Diskriminační (rozdílové) zkoušky

Tyto testy se zaměřují na identifikaci odlišností mezi vzorky. Cílem je zjistit, zda rozpoznatelné rozdíly mezi dvěma či více vzorky existují či nikoliv. Počet hodnotitelů se obvykle pohybuje v rozmezí 10-30, přičemž se v závislosti na kvalitě hodnotitelů a konkrétním úkolu vybírá nejvhodnější druh rozdílové zkoušky [97].

Pro zjišťování rozdílu mezi více než dvěma vzorky se zpravidla s výhodou používá pořadová zkouška řízená normou ČSN ISO 8587 [98].

2.8.2.2 Deskriptivní (popisné) zkoušky

Deskriptivní zkouška je jedním z nejspolehlivějších a nejsofistikovanějších testů senzorické analýzy. Umožňuje posoudit jak kvalitativní, tak kvantitativní charakteristiky produktů, jako jsou aroma, textura, vzhled a chutě. Experti a kvalifikovaní hodnotitelé jsou schopni kvantifikovat tyto vlastnosti odborným popisem [97].

Do této skupiny se řadí i metoda senzorického profilu. Řízena je normou ČSN EN ISO 13299 a je založena na myšlence, že senzorický dojem ze vzorku se skládá z určitého počtu identifikovatelných senzorických deskriptorů (vlastností), které jsou v hodnoceném vzorku přítomny v různých stupních intenzity. Seznam těchto vlastností spolu s hodnotami intenzity tvoří senzorický profil [97, 99].

2.8.2.3 Metody využívající stupnice a kategorie

Norma ČSN ISO 4121 poskytuje obecné pokyny pro použití kvantitativních stupnic, které jsou jedním z nejběžnějších způsobů hodnocení. Termín "stupnice" se běžně používá jako synonymum pro tzv. "odpovědní stupnici". Odpovědní stupnice, například numerická, slovní, dynamická nebo obrázková, umožňuje posuzovateli zaznamenat kvantitativní odpověď. Během senzorické analýzy je stupnice nástrojem pro zachycení posuzovatelovy reakce na určitou vlastnost a možností převést ji na měřitelnouTabu číselnou hodnotu [100].

V praxi se během senzorického testování nejčastěji využívají čtyři hlavní typy stupnic: nominální, ordinální (pořadové), intervalové, poměrové [97].

Dle potřeby testu lze zvolit stupnici spojitou (kontinuální) či nespojitou (diskrétní). Stupnice spojitá umožňuje měření v libovolném rozsahu, přičemž posuzovatelé mohou libovolně pohybovat kursorem podél intenzitní stupnice. Nespojitá stupnice se omezuje na konkrétní, oddělené hodnoty či kategorie [94, 97].

Rozlišujeme také dva různé přístupy k hodnocení senzorických vlastností produktů: pomocí intenzitních nebo hédonických stupnic. Zatímco intenzitní stupnice se zaměřují na měření

intenzity senzorických vlastností produktů, hédonické stupnice se zaměřují spíše na subjektivní pocity a preference spotřebitelů ohledně příjemnosti produktů [94, 97].

Tabulka 5: Příklad intenzitní stupnice [97]

Naprosto nesladký vzorek
Velmi málo sladký
Dosti málo sladký
Středně sladký
Dosti sladký
Velmi sladký
Příliš sladký

Tabulka 6: Příklad hédonické stupnice [97]

Vynikající
Velmi dobrý
Dosti dobrý
Uspokojivý
Ještě přijatelný
Špatný, nepřijatelný
Odporný

2.8.3 Senzorická analýza nečokoládových cukrovinek

Hodnocení pomocí lidských smyslů je velmi populární a senzorická analýza je častou součástí komplexních studií věnujících se potravinářským produktům.

Co se týče nečokoládových cukrovinek, např. studie DeMarsové a Ziegler [101] zkoumala texturu a strukturu želatinových želé cukrovinek s přídavkem pektinu. Senzorické hodnocení ukázalo, že na rozdíl od čistě želatinových vzorku byly gely s pektinem křehčí, méně žvýkavé, jemnější a snadněji se rozmělnily na menší částice. Pektin také zvýrazňoval ovocnou, sladkou a kyselou chuť želé.

Další senzorické hodnocení bylo provedeno v laboratoři potravinářské vědy na Kansas State University [102]. Želé bylo vyrobeno bez přidaného cukru a ochuceno pouze hroznovým džusem. Hodnotitelé byli proto předem vybráni na základě toho, že nekonzumují potraviny s přidaným sladidlem. Jako neutralizátor chuti používali nesolené krekry a destilovanou vodu. Výsledky ukázaly, že posuzovatelé ohodnotili želé na 9-bodové hédonické škále na základě příjemnosti v rozmezí 5,8–6,4.

Studie Utomo a kol. [103] zkoumala fyzikálně-chemické vlastnosti a senzorické hodnocení želé bonbónů vyrobených z různých poměrů karagenanu a konjaku (zmijovce). Senzorické hodnocení zahrnovalo texturu, pružnost, čirost, vůni i chuť a ukázalo, že žádný z poměrů karagenanu a konjaku neměl významný vliv na preference panelistů. Nejlepší recepturou pro výrobu želé bonbónů byla shledána formule A, která obsahovala poměr karagenanu a konjaku 40:25.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část této diplomové práce byla zaměřena na výrobu a analýzu želé cukrovinek, které byly obohaceny o rostlinný extrakt z *F. ulmaria* (tužebníku jilmového). Hlavním cílem bylo navrhnout a optimalizovat technologický postup výroby želé s použitím různých sladidel a také komplexně analyzovat rostlinný extrakt, jenž byl do cukrovinek aplikován.

Dále bylo zkoumáno, jaký vliv má přidání extraktu tužebníku na profil těkavých látek, antioxidační i antimikrobiální aktivitu. Zahrnuta byla také senzorická analýza zaměřena na celkovou senzorickou kvalitu vyrobených želé cukrovinek.

3.1 Použité chemikálie a laboratorní vybavení

3.1.1 Chemikálie

Trolox 97% ((±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina (Glenthman, Velká Británie), ABTS 98% (diamonná sůl 2,2′-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazolin)-6-sulfonové kyseliny) (Glenthman, Velká Británie), Ethanol 96 %, PENTA, Peroxodisíran draselný (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika), Kyselina gallová (Glenthman, Velká Británie), Uhličitan sodný p.a. bezvodý (Glenthman, Velká Británie), Folin-Ciocalteuovo činidlo (VWR Chemicals, Francie), 2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Glenthman, Velká Británie), Masopeptonový agar (Nutrient Agar No. 2, HiMedia, ČR), Masopeptonový bujón (HiMedia Laboratories, ČR)

3.1.2 Plyny

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

3.1.3 Mikroorganismy

Bacillus cereus (CCM 2010); *Escherichia coli* (CCM 3954)

3.1.4 Pracovní pomůcky

SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 μm (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA), Mikropipety BiohitProline (10–1000 μl), špičky, vialky o objemech 10–30 ml se šroubovacím uzávěrem, běžně používané laboratorní sklo a pomůcky, nádobí a pomůcky pro výrobu želé vzorků a jejich senzorickou analýzu

3.1.5 Přístroje

Plynový chromatograf Trace^{TM} 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 Specord® 50 PLUS (Analytikjena, Německo), Vakuová rotační odparka RV06-ML (KIKA-WERKE, Německo), Vodní lázeň Julabo TW12 (Německo), Předvážky EK-600i, (A&D Instruments LTD., Japonsko),

Analytické digitální váhy (HELAGO, GR-202-EC, Itálie), Elektrický mlýnek na kávu TSM6A013B (Bosch, Slovinsko)

3.1.6 Suroviny pro výrobu cukrovinek

Pro výrobu želé cukrovinek byly požity následující suroviny: Glukosový sirup Fractal (Dortisimo), cukr krystal, sladidlo z rostliny Stévie (Zdravýden.cz, Aspen team s.r.o.), xylitol náhradní sladidlo (Allnature), maltitol stolní sladidlo (DeliFood), želatina (na ztužení krémů) jemně mletá, Dr. Oetker, Agar (4cake), kyselina citrónová monohydrát p.a., Lach-Ner, kyselina citrónová jemně krystalická (Dr. Oetker), tužebník jílmový – extrakt (viz kap. 3.2)

3.2 Analyzované vzorky

V experimentální části této práce byly analyzovány modelové vzorky želé cukrovinek, do kterých byly přidán extrakt z byliny zvané tužebník jilmový neboli *Filipendula ulmaria*. Optimalizace výroby vzorků želé probíhala v laboratořích Fakulty chemické VUT, přičemž byl využit upravený technologický postup dřívější diplomové práce, obdobně zaměřené na optimalizaci výroby želé cukrovinek s přídavkem bylinných extraktů [104].

Bylina byla do cukrovinek aplikována ve formě extraktu, postup přípravy extraktu byl převzat z dříve (a částečně paralelně) provedených experimentů, které se zabývají optimalizací přípravy extraktů a jeho aplikací do potravin.

Stručně: navážka činila 10 g/50 ml, macerace probíhala po dobu 75 minut ve 40% ethanolu při 60 °C v ultrazvukové lázni. Sušená nať tužebníku (k přípravě nálevu) byla rozmixována v elektrickém mlýnku, smíchána s roztokem ethanolu o požadované koncentraci a vložena do vodní lázně za podmínek uvedených výše. Po dokončení doby macerace byly vzorky za použití plátna přefiltrovány, aby extrakt neobsahoval kusy rozmixované byliny. Před samotnou aplikací do želé cukrovinek byl extrakt zahuštěn odpařením rozpouštědla pomocí vakuové odparky.

Pro výrobu cukrovinek (kap. 3.2) byly použity následující suroviny: krystalický cukr a jiná náhradní sladidla (stévie, maltitol, xylitol), želatina, agar, glukosový sirup, kyselina citrónová a bylinný extrakt.

Výrobní proces se odvíjel od přípravy tzv. cukrosirupového roztoku, který byl složen z roztoku sladila a glukosového sirupu v poměru 55:45. Tato směs byla poté ohřáta na 80 °C. Současně bylo v samostatné kádince rozmícháno ve studené vodě 7,5 % množství želatiny. Když želatina dostatečně nabobtnala, byla přidána do cukrosirupového roztoku při 80 °C, poté byl roztok z plotny odstaven. Následně byla směs za neustálého míchání chlazena, dokud nedosáhla teploty přibližně 50 °C. Až nyní byly do směsi vmíchány 2 % kyseliny citrónové a bylinného extraktu). Takto připravená směs byla rozlita do forem z kvalitního silikonu, ponechána stát 30 minut při stabilní laboratorní teplotě 23 °C, předtím než byla umístěna do chladničky, kde došlo k finálnímu tuhnutí během následujících 48 hodin.

V rámci optimalizace byla nejprve vyrobena jedna série vzorků (bez přídavku extraktu) s různými koncentracemi několika druhů vodných roztoků náhradních sladidel. Konkrétně vzorky první sady s roztokem xylitolu, maltitolu a stévie (10%, 50% a 90% hm.). Jako druhá sada první série byly připraveny vzorky se stejnými surovinami jako první, avšak s jinými koncentracemi sladidel (pro porovnání intenzity sladké chuti s 25% hm. a 75% hm. roztoky sladidla). Pro srovnání byl připraven také „standardní“ vzorek s 50% hm. roztokem sacharosy. „Ideální“ sladidlo a jeho množství bylo zjištěno pomocí senzorického hodnocení, byly vybrány koncentrace použité v první sadě (10% hm., 50% hm. a 90% hm.).

Druhá série byla vytvořena dle „ideálního“ složení vzorku z předchozích sérií, ale lišila se množstvím přidaného extraktu a druhem želírující látky. První sada obsahovala želatinu a přídavek extraktu (2 %, 5 % a 8 % hm.). Druhá sada obsahovala jako želírující činidlo agar, přídavek extraktu zůstal stejný (2 %, 5 % a 8 % hm.). Série jsou přehledněji popsány v následující tabulce (Tabulka 7):

Tabulka 7: Označení vzorků během výrobních sérií optimalizace

První série: optimalizace druhu a přídavku sladidla				
Sladidlo		*Roztok sladidla [% hm.]*	*Označení vzorku*	
Sacharosa		50	Cukr	
Maltitol		50	Mal50	
Xylitol		50	Xyl50	
Stévie		50	Stv2	
Maltitol		10	Mal10	
Xylitol		10	Xyl10	
Stévie		10	Stv1	
Maltitol		90	Mal90	
Xylitol		90	Xyl90	
Stévie		90	Stv4	
Druhá série: optimalizace přídavku extraktu a druhu želírující látky				
Druh želírující látky		*Přídavek extraktu [% hm.]*	*Označení vzorku*	
			Agar	Želatina
agar	želatina	2	A2	Ž2
agar	želatina	5	A5	Ž5
agar	želatina	8	A8	Ž8

Vzorky byly uchovávány v lednici bez přístupu světla pod potravinovou fólií, aby byly vlivem skladování co nejméně ovlivněny jejich senzorické vlastnosti. Co se týče senzorické analýzy, nebyly želé bonbóny nijak upraveny, avšak pro následující chemické analýzy byly

nakrájeny na drobné kousky (stanovení těkavých látek) nebo rozpuštěny ve vodě v poměru 1:4 (pro stanovení obsahu fenolických látek a antioxidační aktivity). Pro testování antimikrobiální aktivity byly z důvodu nutnosti kapalných vzorků a opětovnému tuhnutí rozpuštěných cukrovinek připraveny modelové roztoky o složení: požadované množství extraktu (2 %, 5 %, 8 % hm.) voda a kyselina citrónová (2 % hm.).

3.3 Použité experimentální postupy a metody

3.3.1 Metoda HS-SPME-GC-MS

K identifikaci a semikvantifikaci těkavých komponent ve vyrobených vzorcích želé a extraktu tužebníku byla využita technika headspace solid-phase microextraction (mikroextrakce tuhou fází) následovaná plynovou chromatografií spojenou s hmotnostní spektrometrií (HS-SPME-GC-MS). Před analýzou byly cukrovinky nejprve pečlivě rozřezány na drobné kousky (max. 5 mm) a poté vloženy do analytických vialek, tak, aby nedošlo k jakémukoliv dotyku mezi vzorkem a SPME vláknem.

Navážka pro analýzu v případě vzorku želé byla přibližně 2 g, v případě extraktu byly napipetovány 2 ml (viz Obrázek 4).

Obrázek 4: Vzorky připravené na analýzu pomocí GC-MS

3.3.1.1 Podmínky HS-SPME extrakce

Doba inkubace (temperování): 20 minut; doba extrakce: 25 minut, teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru): 55 °C, agitátor zapnutý: 5 sekund; vypnutý: 60 sekund, množství vzorku: 2 g, hloubka ponoření vlákna do vialky: 20 mm

3.3.1.2 Podmínky GC-MS analýzy

Kapilární kolona ZB-Wax (30 m × 0,25 mm × 0,5 µm), teplota injektoru (desorpce): 230 °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: 50 °C

s výdrží 1 min., vzestupný gradient: 5 °C/min do 150 °C s výdrží 10 min., vzestupný gradient: 5 °C/min do 180 °C s výdrží 10 min., vzestupný gradient: 5 °C/min do 220 °C s výdrží 10 min., celková doba analýzy: 70 minut, hmotnostní detektor v modu EI, energie ionizačních elektronů: 70 eV, teplota iontového zdroje: 220 °C, skenovací rozsah *m/z*: 30-300 amu, rychlost skenování: 0,2 s

3.3.2 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity

Stanovení antioxidační aktivity bylo provedeno metodou TEAC a pomocí metody s použitím DPPH, jak je podrobněji popsáno v kapitole 2.6.1.

Pro měření pomocí metody TEAC byl nejprve připraven roztok $ABTS^{\bullet+}$ s koncentrací 7 mmol/l rozpouštěním ABTS ve vodě, ke kterému byl přidán peroxodisíran sodný v koncentraci 2,45 mmol/l. Takto připravený roztok byl ponechán v lednici zabalený v alobalu po dobu nejméně 12 hodin před samotným měřením.

Pro samotné měření byl nejdříve roztok $ABTS^{\bullet+}$ naředěn 60% ethanolem tak, aby jeho absorbance dosahovala hodnoty A = 0,734 ± 0,02 při vlnové délce λ = 734 nm, v porovnání s ethanolem sloužícím jako blank (slepý vzorek).

Poté byl do zúžené kyvety napipetován 1 ml zředěného roztoku $ABTS^{\bullet+}$ a 10 µl destilované vody a ihned byla změřena absorbance (A_0).

Následně bylo do další kyvety k 1 ml tohoto naředěného roztoku $ABTS^{\bullet+}$ přidáno 10 µl vzorku a sledovala se změna absorbance v průběhu 10 minut (A_1). Během celého procesu měření byly vzorky a reakční směsi uchovávány ve tmě.

Výpočet výsledné absorbance (A) byl realizován podle předem stanoveného vzorce (1):

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

Procenta zhášení radikálu bylo vypočteno pomocí vzorce (2):

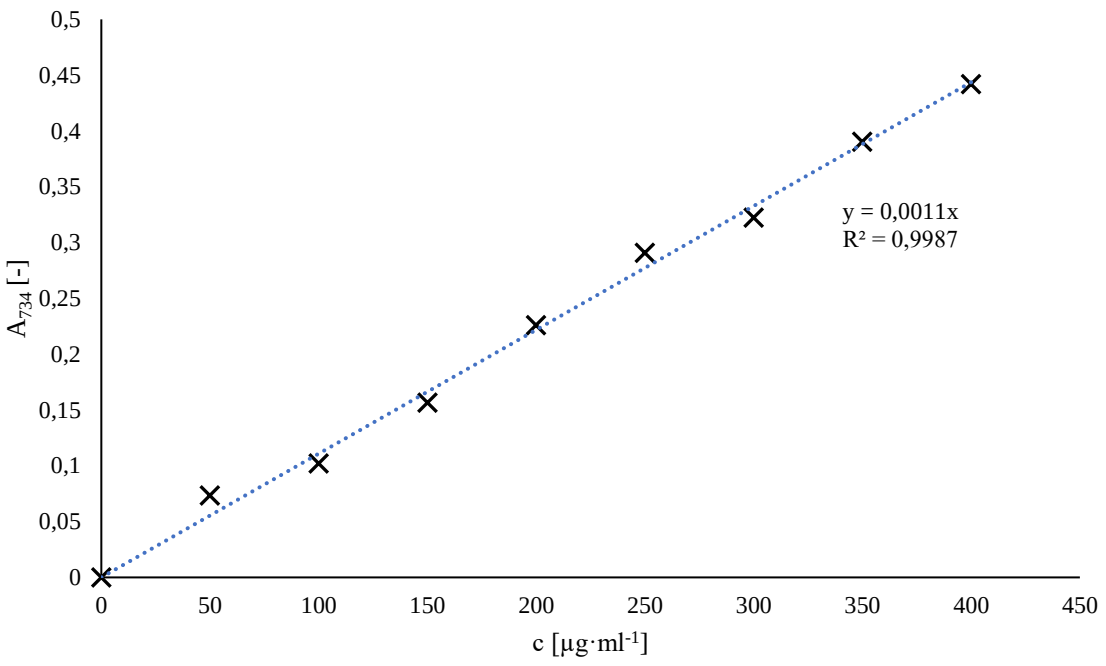
$$zhášení\ radikálu = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \cdot 100\ [\%] \tag{2}$$

Pro měření pomocí metody DPPH bylo do zkumavek napipetováno 3,25 ml methanolického roztoku radikálu DPPH, 1,25 ml fosfátového tlumivého roztoku o pH = 7 a 0,5 ml vzorku. Po promíchání se zkumavky nechaly inkubovat 30 minut při laboratorní teplotě v temnu. Po uplynutí této doby byly vzorky proměřeny při vlnové délce 519 nm proti slepému vzorku (který obsahoval 2 ml metanolu a 1 ml fosfátového pufru).

3.3.2.1 Příprava kalibrační křivky (Trolox)

Pro vytvoření kalibrační křivky byly připraveny různé koncentrace Troloxu ředěním jeho zásobního roztoku pomocí 60% ethanolu, čímž bylo získáno koncentrační rozpětí od 50 do 400 µg/ml. Měření absorbance probíhalo při vlnové délce λ = 734 nm proti referenčnímu vzorku, pro což byl využit ethanol.

Výsledky měření kalibrace jsou prezentovány pomocí parametru TEAC, což znamená, že antioxidační schopnosti vzorku (v $\mu g \cdot ml^{-1}$) jsou brány jako ekvivalentní koncentraci Troloxu.



Graf 1: Kalibrační křivka Troloxu

3.3.3 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu fenolů

Stanovení celkového obsahu fenolů (TPC) bylo provedeno použitím spektrofotometrické metody s Folin-Ciocalteuovým činidlem, blíže popsáno v kapitole 2.6.2.

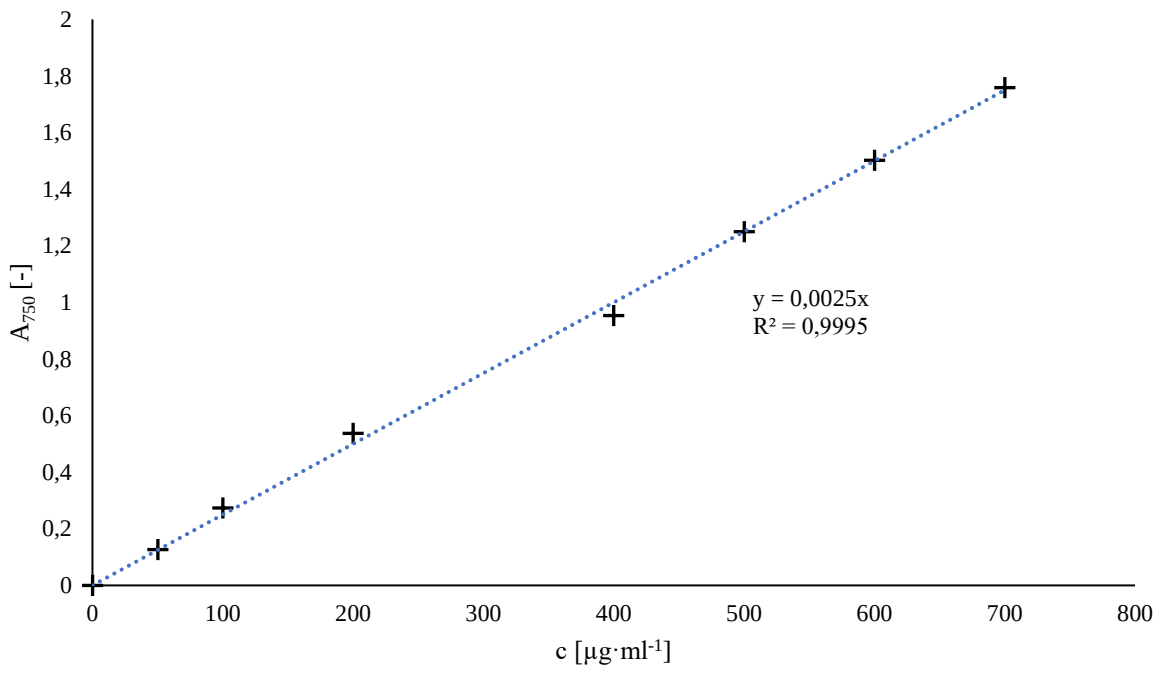
Nejdříve byl vytvořen pracovní roztok Folin-Ciocalteuova činidla ředěním s vodou v poměru 1:9. Dále byl připraven nasycený roztok uhličitanu sodného (Na_2CO_3) rozpuštěním 7,5 g v 95 ml vody.

Během měření byl do zkumavek nejprve přidán 1 ml vody a 1 ml ředěného Folin-Ciocalteuova činidla a 100 µl testovaného vzorku. Po důkladném promíchání byly vzorky ponechány inkubovat za laboratorní teploty po dobu 5 minut. Po uplynutí této doby byl do směsi přidán 1 ml roztoku uhličitanu sodného, vzorky byly opět promíchány a inkubovány 45 minut v temnu. Paralelně byl připraven i slepý vzorek, do kterého bylo místo analyzovaného vzorku přidáno 100 µl destilované vody.

Po 45 minutách byla měřena absorbance při vlnové délce λ = 750 nm proti slepému vzorku.

3.3.3.1 Příprava kalibrační křivky (kyselina gallová)

Pro sestrojení kalibrační křivky byly připraveny kalibrační roztoky kyseliny gallové o koncentracích 0,1 – 0,7 mg/ml. Absorbance byla měřena při λ = 750 nm proti slepému vzorku. Výsledky pak byly vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE – Gallic Acid Equivalent, což představuje 1 mg kyseliny gallové na 1 g vzorku).



Graf 2: Kalibrační křivka kyseliny gallové

3.3.4 Spektrofotometrické stanovení antokyanů

Byla použita pH diferenciální metoda (viz kap. 2.6.2.1). Neředěný vzorek byl nejprve naředěn KCl pufrem (pH = 1) na absorbanci $A_{520} < 1{,}000$ a toto ředění bylo zaznamenáno. Vzorky byly následně připraveny se stejným ředěním jako v předchozím kroku s KCl i octanovým pufrem (pH = 4,5) a ponechány 15 minut na ustálení. Spektrometr byl vynulován na destilovanou vodu a po uplynutí požadované doby byly vzorky změřeny pro oba pufry při absorbanci A_{520} a A_{700}.

3.3.5 Ověření antimikrobiální aktivity

Pro stanovení antimikrobiální aktivity vzorků byla použita jamková difúzní metoda, jejíž princip je uveden v kapitole 2.7.1.3.

3.3.5.1 Použité mikroorganismy

Pro testování byly použity: jako zástupce grampozitivních bakterií *Bacillus cereus* a gramnegativních *Escherichia coli*.

3.3.5.2 Příprava a zaočkování bujónů

Oba mikroorganismy byly nejprve namnoženy v tekurém živném médiu: byl použit masopeptonový bujón, připravený dle návodu navážením 25 g přípravku a rozpuštěním v 1000 ml destilované vody a následně vysterilizovaný při teplotě 121 °C po dobu 20 minut. Bujón byl následně pro *B. cereus* rozpipetován do zkumavek a pro *E. coli* byl odpipetován bujón o objemu 50 ml.

B. cereus byl následně přeočkován z šikmého agaru do zkumavek s připraveným bujónem. 50 ml bujónu bylo zaočkováno *E. coli* pomocí kultury z tekutého média. Inokula pak byla inkubována při 25 °C *(B. cereus)* a 37 °C *(E. coli)* po dobu 24 hod.

3.3.5.3 Příprava kultivačního média

Na přípravu kultivačního média byl použit masopeptonový agar (Nutrient Agar No. 2, HiMedia). Živné médium bylo připraveno dle návodu navážením 40 g do 1000 ml destilované vody a poté vysterilizováno při 121 °C po dobu 20 minut.

3.3.5.4 Postup stanovení

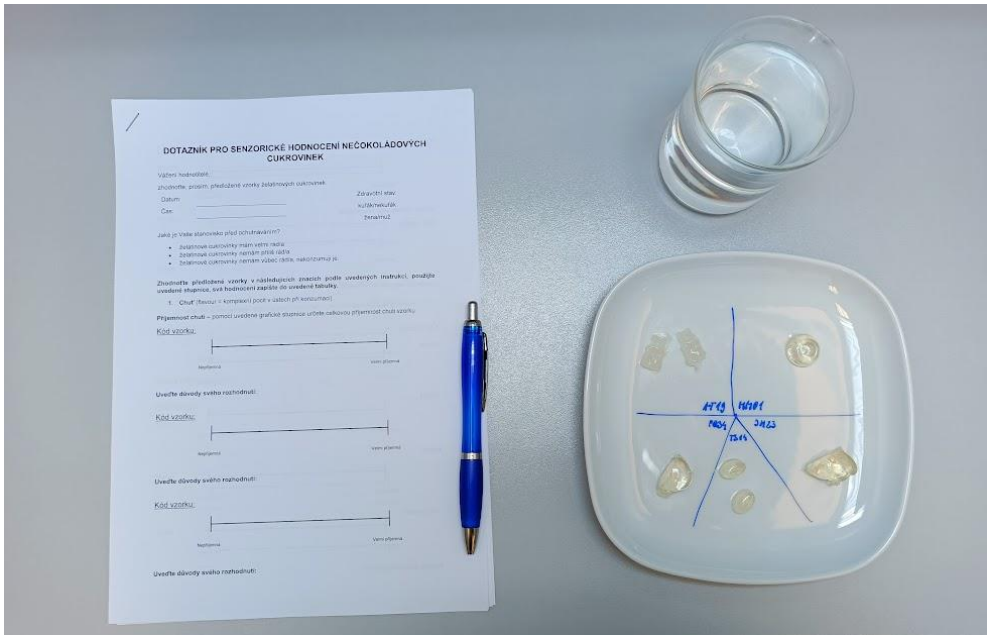
Do 150 ml vysterilizovaného zchlazeného kultivačního média bylo napipetováno 1,5 ml bujónu obsahujícího 24hodinovou kulturu daného mikroorganismu. Naočkované živné médium (inokulum) bylo rozlito do Petriho misek a ponecháno k zatuhnutí. V případě *E. coli* byl zatuhnutý agar ještě přelit čistým živným médiem a opět ponechán k zatuhnutí. Po zatuhnutí byly do agaru udělány jamky o průměru cca 0,5 cm. Do 4 jamek byl pak pipetován připravený extrakt/vzorek a do prostřední kontrolní jamky bylo napipetováno rozpouštědlo použité pro přípravu extraktu (40% ethanol). Misky byly kultivovány při 25 °C *(B. cereus)* a při 37 °C *(E. coli)* po dobu 72 hodin. Následně byly změřeny průměry vzniklých inhibičních zón.

3.3.6 Senzorická analýza

Pro zjištění optimální receptury cukrovinek s přídavkem extraktu a náhradního sladidla proběhly senzorické testy celkem třikrát. Vzorky použité pro senzorickou analýzu pocházely z téže výrobní série, která byla následně podrobena i chemickým analýzám.

Vzorky byly připraveny na talířích, označeny anonymními čtyřmístnými kódy a předloženy k hodnocení (viz Obrázek 5). K neutralizaci chuti sloužila voda.

Hodnotící panel se skládal z fakultních studentů a zaměstnanců VUT, přičemž se 16 osob dostavilo na testování první série želé bonbónů v listopadu 2023 (kvůli celkovému počtu vzorků byly vzorky rozděleny a provedeny 2 senzorické analýzy) a 22 respondentů se dostavilo na závěrečnou senzorickou analýzu v únoru 2024.



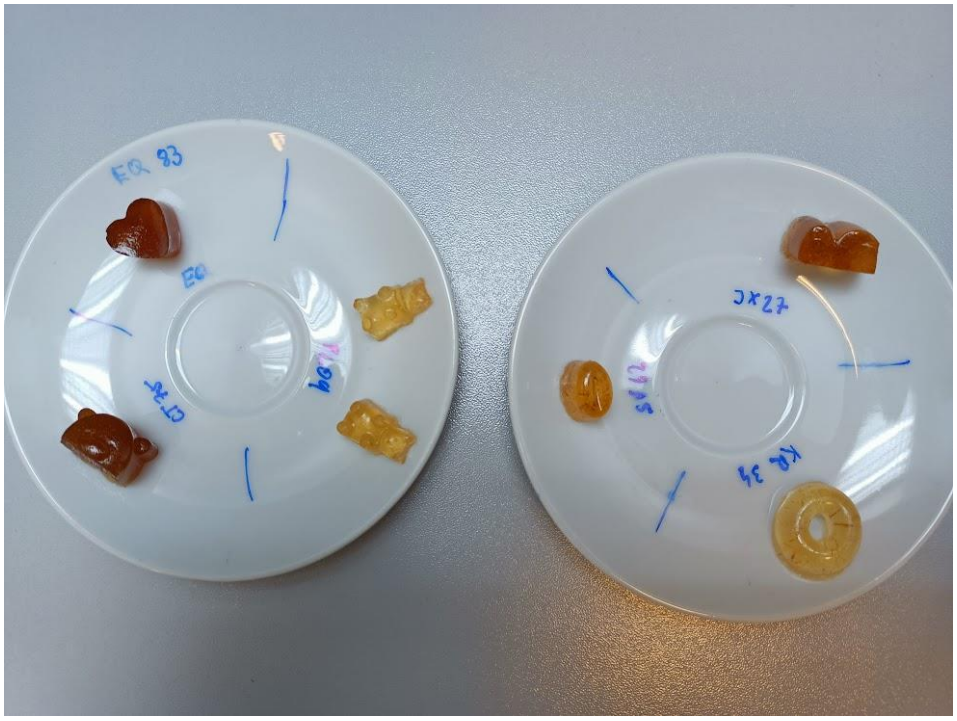
Obrázek 5: Vzorky první série nachystané pro senzorickou analýzu

Hodnocení jednotlivých aspektů bylo provedeno pomocí strukturovaných i nestrukturovaných grafických stupnic o délce 10 cm (ČSN ISO 4121), zahrnut byl také profilový test chutí (ČSN EN ISO 13299) a u poslední senzorické analýzy i pořadová zkouška (ČSN ISO 8587).

V rámci optimalizace druhu a množství přídavku náhradního sladidla byla analýza zaměřena především na hodnocení chuti. Prvním aspektem byla chuť/flavour (neboli komplexní pocit v ústech při konzumaci) hodnocená pomocí stupnice *(nepříjemná → velmi příjemná)*, následoval profilový test vybraných chutí – kyselá, sladká, umělá a popř. jiná (pachuť), které byly hodnoceny na stupnici *neznatelná → velmi výrazná*. Jako poslední byla hodnocena příjemnost sladké chuti strukturovanou stupnicí *málo sladká → optimálně sladká (střed) → příliš sladká.*

Pro závěrečnou analýzu bylo zvoleno komplexnější posouzení předložených vzorků, byl optimalizován přídavek extraktu a zároveň druh želírující látky (Obrázek 6). Hodnocena byla intenzita *(nejméně intenzivní → nejvíce intenzivní)* a příjemnost *(nejméně příjemná → nejvíce příjemná)* barvy, intenzita vůně *(nejméně intenzivní → nejvíce intenzivní),* konzistence pomocí strukturované grafické stupnice *(příliš měkká→ optimální (střed) → příliš tuhá),* chuť (flavour) *(nepříjemná → velmi příjemná),* profilový test – zde byly vybrány chutě kyselá, sladká, hořká a jiná pro případnou pachuť (*neznatelná → velmi výrazná)* a na závěr byla přichystána tabulka pro pořadovou zkoušku, tj. seřazení vzorku *(1: nejvíce přijatelný → 6: nejméně přijatelný)*.

Dotazníky připravené pro senzorickou analýzu jsou k nahlédnutí v Příloze 1 a 2.



Obrázek 6: Vzorky pro druhou sérii senzorického hodnocení

3.3.7 Statistické vyhodnocení výsledků

Naměřená data byla zpracovávána a vyhodnocena pomocí programu Microsoft Excel (Microsoft 365) a Statistica 14. Hladina významnosti α byla stanovena na hodnotu $\alpha = 0{,}05$, při které byly provedené veškeré statistické analýzy.

Výsledky získané ze senzorické analýzy jsou prezentovány graficky, přičemž data s normální distribucí jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka, zatímco data, která normální rozložení nevykazují, jsou prezentována jako medián ± interkvartilový rozptyl všech hodnotitelů. Hodnoty odečtené ze stupnic jsou uváděny v centimetrech. Pro statistickou analýzu dat byly využity následující metody: parametrická analýza rozptylu (ANOVA) pro data s normální distribucí a neparametrický Kruskal-Wallisův test pro data s nenormální distribucí, doplněné o další specifické statistické testy (Shapiro-Wilk, Tukey) pro detailnější vyhodnocení.

Hodnoty antioxidační aktivity a celkový obsah fenolů a antokyanů, jsou uváděny jako průměr získaný ze tří měření (n = 3) ± směrodatná odchylka a znázorněny pomocí Microsoft Excel.

Proces identifikace aromaticky aktivních látek vyextrahovaných v testovaných vzorcích želé a extraktu byl proveden s využitím softwaru Xcalibur verze 2.2 od společnosti Thermo Scientific Inc., sídlící ve Waltham, MA, USA. Hmotnostní spektra analyzovaných vzorků byla porovnána s existující databází spekter a také byly srovnány hodnoty retenčních časů s hodnotami, které byly již v dané databázi publikovány.

Plochy příslušných píků na chromatogramu semikvantitativně vyjadřují obsah jednotlivých skupin identifikovaných látek (vyjádřeny jako relativní %). Každý vzorek byl pro větší přesnost podroben analýze celkem 3x a výsledky byly následně vyjádřeny jako průměrné hodnoty ze tří analýz (n=3) ± směrodatná odchylka.

Vyhodnocení výsledků antimikrobiální aktivity bylo provedeno měřením vzniklých inhibičních zón v okolí jamek. Průměry inhibičních zón byly změřeny s přesností na milimetry.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce navazuje na poznatky získané v předchozích studiích zaměřených na optimalizaci výrobních procesů želé cukrovinek a výrobu extraktů z různých bylinných druhů. Jejím hlavním cílem je komplexní analýza a využití extraktu z tužebníku jilmového *(Filipendula ulmaria)* v nečokoládových cukrovinkách. Součástí je návrh a optimalizace technologického postupu výroby želé cukrovinek za použití různých typů sladidel a želírujících činidel s ohledem na jejich vliv na finální produkt.

Byly vyrobeny modelové vzorky cukrovinek na základě technologického postupu uvedeného v kapitole 2.3.2.5, do kterých byl aplikován extrakt z tužebníku, jehož proces výroby je uveden v kapitole 3.2.

Vzhledem k faktu, že extrakt dokáže nejen zvýšit senzorickou kvalitu (z hlediska barvy, vůně a chuti), ale i nutriční stránku vyrobeného želé, byly tyto vzorky následně analyzovány chemicky, konktrétně jejich antioxidační a antimikrobiální potenciál, profil těkavých látek a celková senzorická kvalita.

K identifikaci a kvantifikaci těkavých složek byla využita metoda HS-SPME-GC-MS (viz kapitola 2.5.2.1). Pro stanovení antioxidační aktivity byly využity metody založené na schopnosti vzorků neutralizovat volné radikály (metody TEAC, kap. 2.6.1.1 a DPPH, kap. 2.6.1.2), antimikrobiální účinky byly hodnoceny pomocí standardního mikrobiologického testu (kap. 2.7.1.3). Celkový obsah fenolických sloučenin byl měřen spektrofotometricky s využitím Folin-Ciocalteuova činidla (kap. 2.6.2) a spektrofotometrickou metodou byl stanoven i obsah antokyanů (kap. 2.6.2.1).

Výsledná senzorická analýza, prováděná metodami uvedenými v kapitole 2.8.2, měla za úkol posoudit, jak přidaný rostlinný extrakt, použité sladidlo a želírující látka ovlivňují vnímání chuti, vůně, textury i celkové přijetí cukrovinky jako takové konzumenty.

4.1 Optimalizace technologického postupu výroby želé

Prvním krokem byla optimalizace procesu výroby želé cukrovinek za použití alternativních sladidel, které významně ovlivňují dosažení požadovaného chuťového profilu a také potenciální zdravotní benefity výsledného želé. Konečný výrobek s „ideálním“ alternativním sladidlem umožňuje efektivní aplikaci rostlinného extraktu *F. ulmaria* do výrobku, přičemž jsou zachovány jeho bioaktivní vlastností i senzorická kvalita.

Základní postup a podmínky přípravy extraktu a želé cukrovinek jsou uvedeny v kap. 3.2.

4.1.1 Aplikace náhradního sladidla

V rámci inovace výrobního procesu želé cukrovinek byl prozkoumán potenciál alternativních sladidel – konkrétně stévie, xylitolu a maltitolu. Namísto standardně používaného 50% roztoku sacharosy a glukosového sirupu v poměru 55:45 při vytváření cukrosirupové směsi byl využit roztok náhradního sladidla. Pro každé zmíněné sladidlo byly vytvořeny samostatné série, ve kterých byly testovány tři rozdílné koncentrace roztoku – 10 % hm., 50 % hm. a 90 % hm.,

které byly zvoleny s cílem vyzkoušet rozsah možností pro dosažení optimální sladké chuti a současně zkoumat jejich vliv na texturu a senzorickou kvalitu finálních výrobků. Na základě senzorického hodnocení bylo vybráno „ideální“ náhradní sladidlo, které bylo následně využito pro výrobu želé cukrovinek s přídavkem extraktu a zároveň i želé s odlišnými želírujícími látkami (agar, želatina). Výsledky jsou uvedeny v kapitole 4.2.

4.1.2 Přídavek bylinného extraktu a želírujícího činidla

Pro potřeby optimalizačního procesu byla připravena řada želé vzorků využívající dva druhy želírujících látek – želatinu a agar. Každá série byla vyrobena s přídavkem extraktu s obsahem 2 %, 5 % a 8 %. Připravené vzorky obou sérií byly poté předloženy hodnotitelům k senzorické analýze pro posouzení, jak jednotlivé koncentrace extraktu ovlivní chuťové vlastnosti vyrobeného želé a zároveň jak se cukrovinky liší z hlediska textury i chutě v závislosti na použité želírující látce. Výsledky se nachází v kapitole 4.3.

4.2 Optimalizace množství a druhu sladidla a jeho vliv na senzorickou kvalitu

Optimalizace přídavku vybraných sladidel a případně výběr nejlepšího byla klíčovou součástí vývoje, přičemž cílem bylo najít ideální poměr mezi sladkostí a celkovým chuťovým profilem cukrovinek (náhradní sladidla mohou často při vyšších koncentracích způsobovat nežádoucí pachuť).

Jak již bylo zmíněno, byly vyrobeny vzorky různé úrovně sladkosti (10% hm., 50% hm. a 90% hm.), které následně panelisté ohodnotili z hlediska přijatelnosti celkového flavouru a konkrétní sladké chuti a podrobněji pomocí profilové zkoušky (viz formulář v Příloze 1). Na základě těchto poznatků byla vybrána nejvhodnější koncentrace a sladidlo pro další výrobu cukrovinek. Cílem bylo vyrobit takový želé produkt, který nejen splňuje očekávání konzumenta v oblasti sladké chuti, ale zároveň přináší další senzorické a potenciálně zdravotní výhody, např. snížení celkového energetického příjmu, díky nižšímu obsahu energie.

4.2.1 Příjemnost sladké chuti a celkového flavouru

Získaná data ze senzorické analýzy jsou uvedena v následující tabulce (Tabulka 8) a grafech 3 až 14. Pro porovnání je vždy dané sladidlo graficky srovnáno i se „standardním“ vzorkem, který obsahoval tradičně používanou sacharosu, v koncentraci 50% roztoku.

Při pohledu na Tabulku 8 lze vidět, že v případě xylitolu byly z hlediska flavouru nejlépe hodnoceny vzorky s obsahem 90% roztoku sladidla, byť má xylitol přibližně stejnou sladivost, jako cukr. Čím nižší byl tedy přídavek xylitolu, tím nižší bylo i hodnocení respondentů v oblasti příjemnosti chuti. Je zajímavé, že vzorek s xyl50 a xyl90 byla z hlediska optima sladké chuti hodnoceny velmi podobně, a to jako optimálně sladké.

V případě maltitolu to byl nejlépe ohodnocen vzorek mal50 s přídavkem 50% hm., tedy stejného množství, jaké bylo použito pro výrobu „standardního“ vzorku se sacharosou. Také tento vzorek dosáhl téměř optimální hodnoty sladké chuti.

Tabulka 8: Vliv druhu a množství sladidla na příjemnost sladké chuti a celkového flavouru

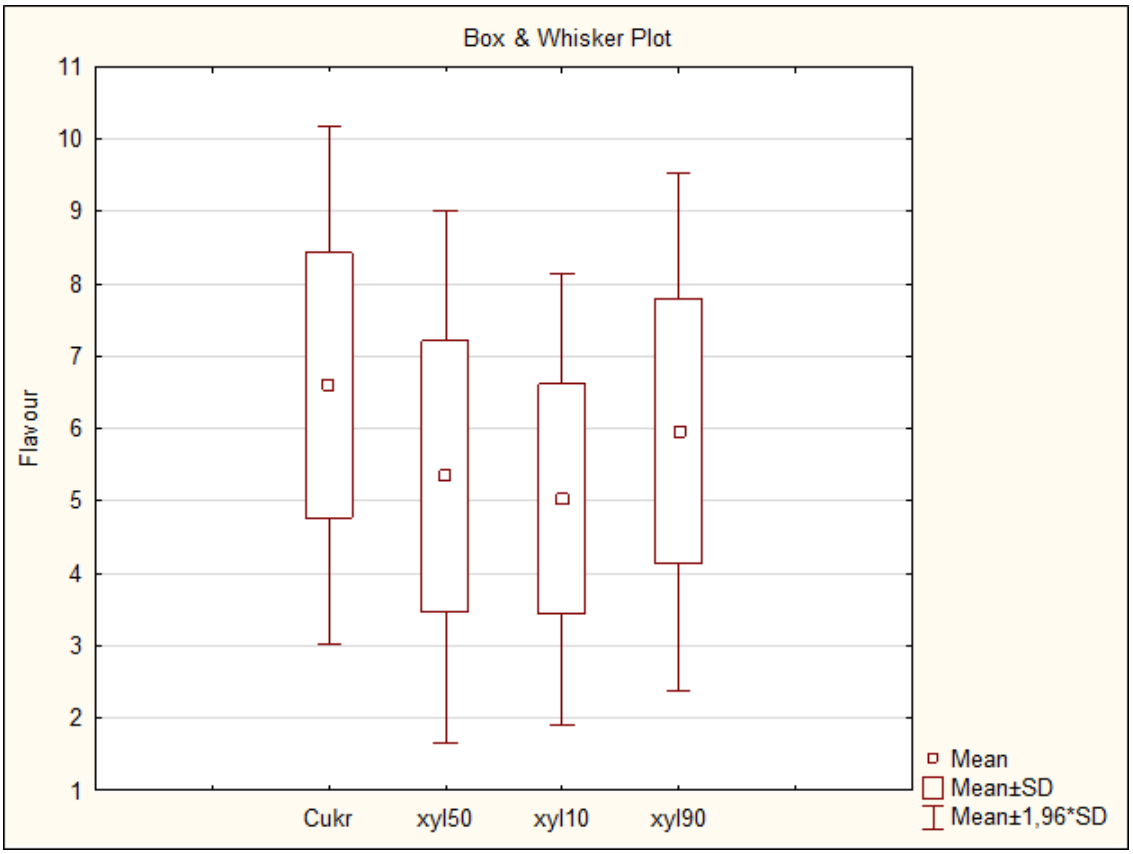
Vzorek	Celková příjemnost chuti	Optimum sladké chuti
	Průměr [cm]	***Medián [cm]***
Cukr	6,6 ± 1,8	4,8 ± 2,8
xyl10	5,0 ± 1,6	3,2 ± 2,4
xyl50	5,3 ± 1,9	5,0 ± 3,4
xyl90	6,0 ± 1,8	5,0 ± 2,7
stv1	5,6 ± 1,9	3,9 ± 2,7
stv2	3,8 ± 2,5	5,1 ± 3,7
stv4	2,4 ± 1,7	4,7 ± 2,0
vzorek	***Medián [cm]***	
mal10	3,7 ± 1,5	1,3 ± 0,7
mal50	7,7 ± 0,8	4,9 ± 2,5
mal90	5,8 ± 4,2	5,2 ± 4,5

*(*Použité stupnice: nepříjemná → velmi příjemná; málo sladká → příliš sladká; identifikace vzorků viz Tabulka 7)*

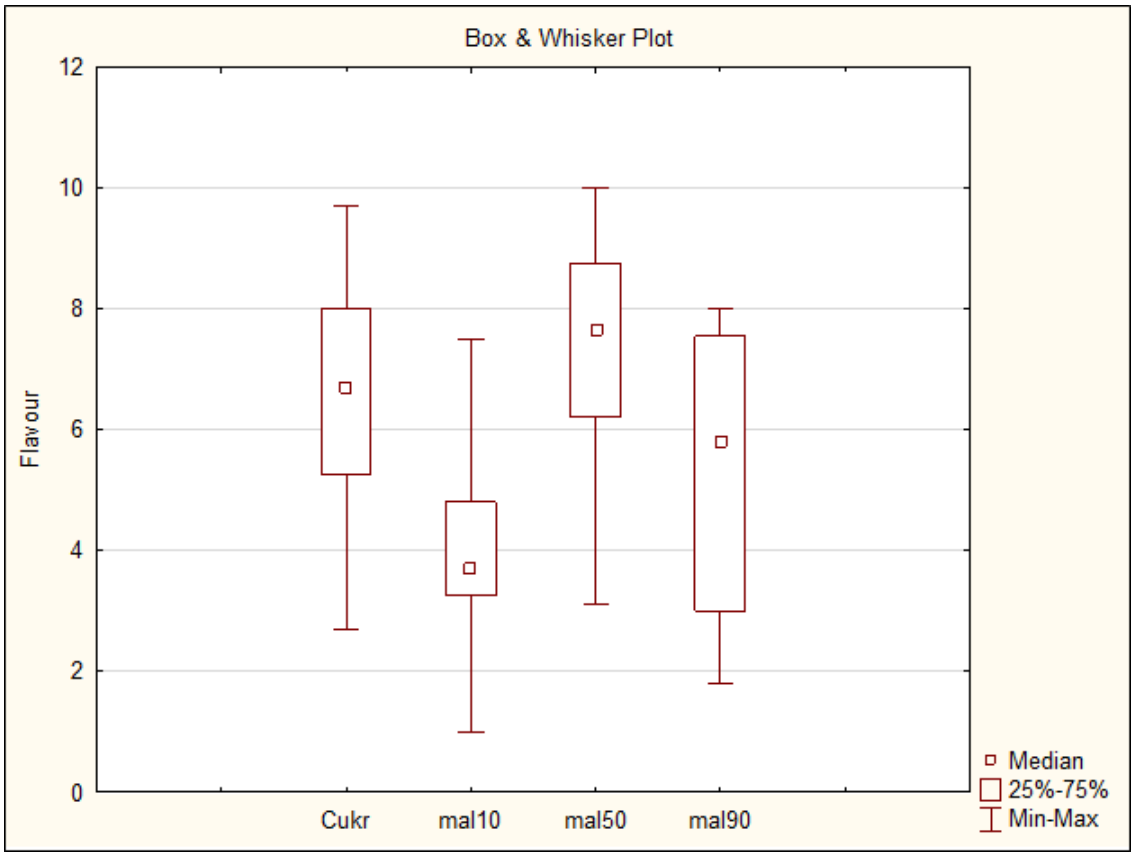
U stévie lze pozorovat s vyšším přídavkem klesající trend hodnocení flavouru, pravděpodobně z důvodu její typické pachuti. Ta také pravděpodobně zapříčinila i hodnocení příjemnosti sladké chuti okolo optima. Někteří hodnotitelé správně rozpoznali větší množství tohoto sladidla a ohodnotili vzorek jako příliš sladký. Naopak, někteří si lehce nahořklou, kovovou pachuť vyložili tak, že je vzorek málo sladký a udělili tedy i nižší hodnocení.

4.2.1.1 Hodnocení chuti/flavouru

V grafickém znázorněni (Graf 3) lze pozorovat vliv xylitolu na flavour želé bonbónů. Překvapivě nejlépe byl hodnocený vzorek s 90 % hm. roztokem xylitolu, který se nejvíce přiblížil hodnocení vzorku standardního s cukrem, následován vzorkem xyl50, u kterého bylo původně očekáváno nejlepší hodnocení. Nejméně chutný byl dle hodnotitelů vzorek xyl10 s 10 % hm. obsahem roztoku sladidla, což bylo možné očekávat, jelikož většina panelistů očividně dávala přednost výraznější sladké chuti. Při přesnějším statistickém zpracování pomocí Tukeyho testu však bylo prokázáno, že mezi vzorky neexistují statisticky významné rozdíly ($p = 0{,}7118$; $p>\alpha$). Obecně ale bylo toto sladilo přijato vcelku dobře a žádný ze vzorků nebyl hodnocen výrazně negativním způsobem.



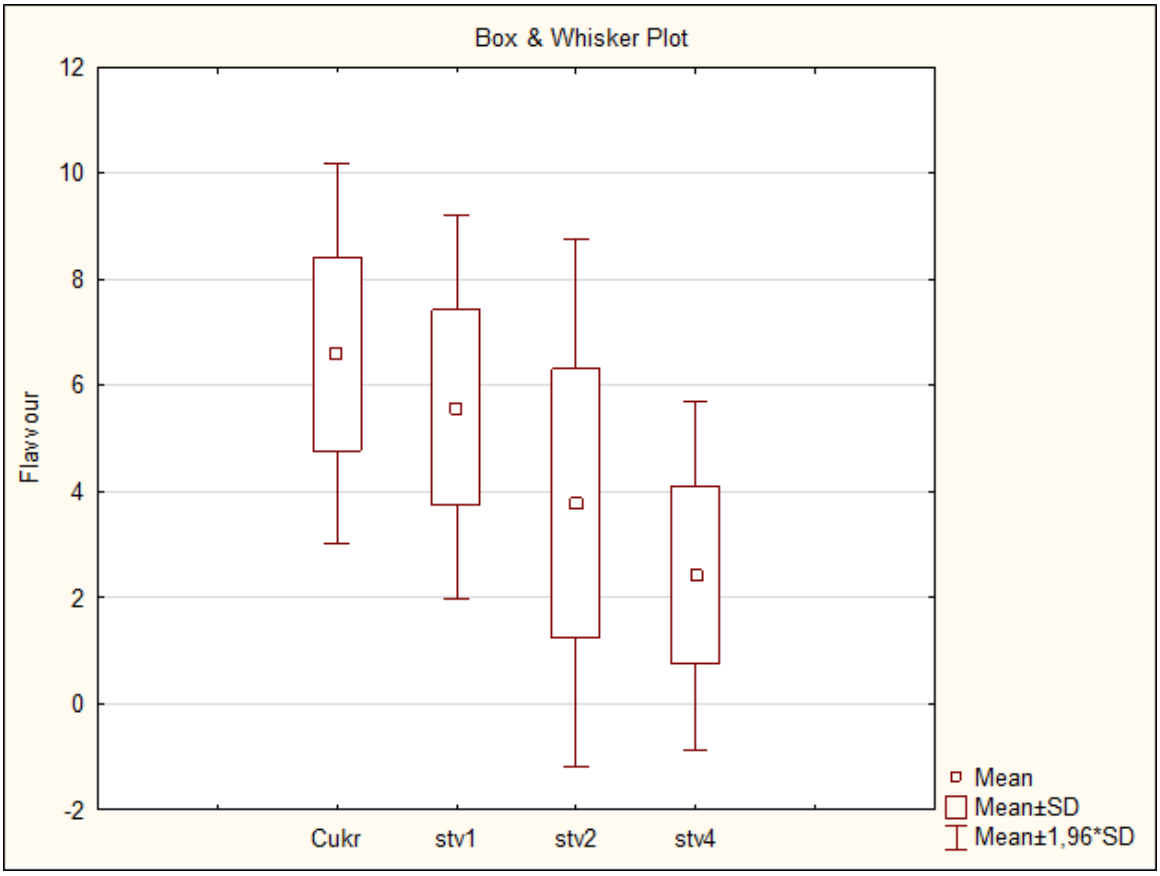
Graf 3: Vliv xylitolu na flavour želé cukrovinky



Graf 4: Vliv maltitolu na flavour želé cukrovinky

Co se týče sladidla maltitolu, byla po statistické analýze pozorována nenormální distribuce dat, proto jsou výsledky flavouru uvedeny v hodnotách mediánu ± interkvartilový rozptyl, což je pro nenormální distribuci přesnější (viz Graf 4).

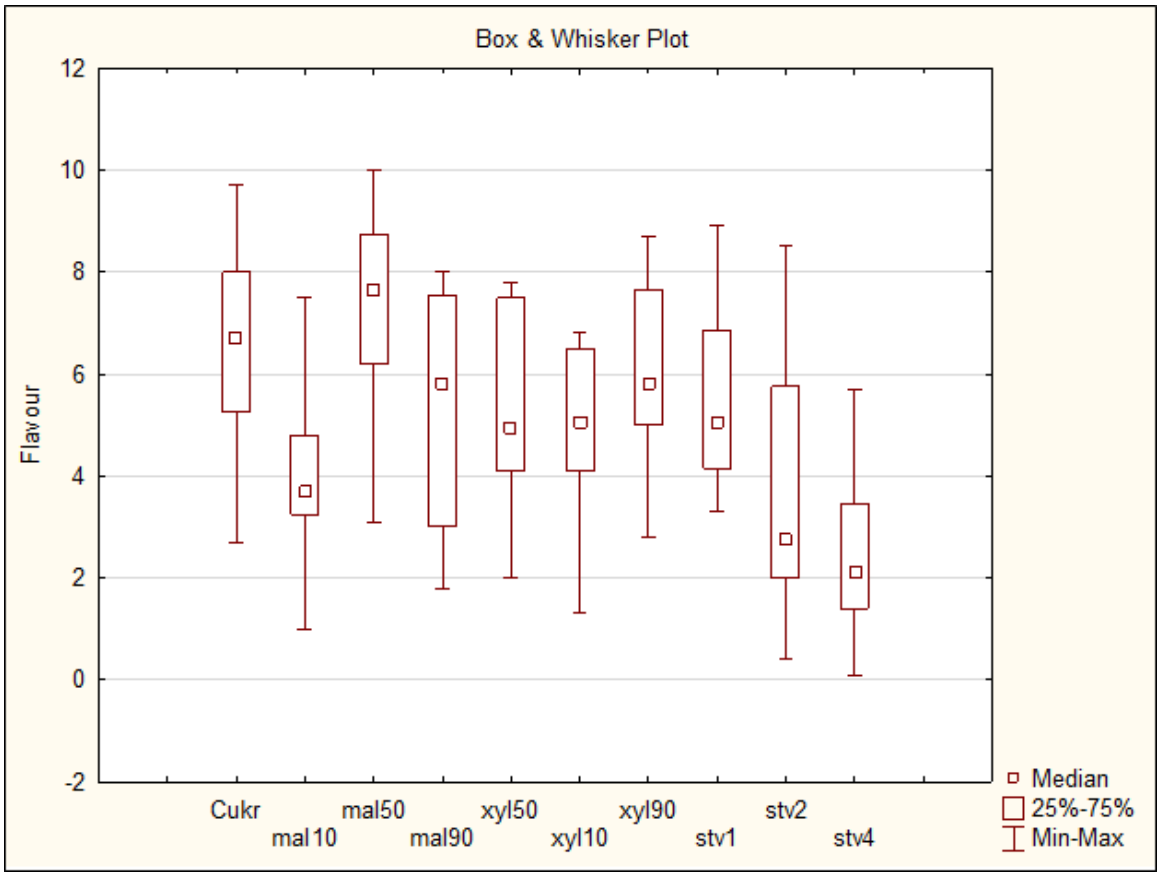
Dle očekávání byl jako chuťově nejpříjemnější zvolen vzorek s 50 % hm. roztokem sladidla, překvapivější však už byla skutečnost, že byl dokonce ohodnocen lépe než standardní vzorek se sacharosou. Dále se potvrdilo, že posuzovatelé dávají přednost spíš sladší chuti, jako další byl totiž vzorek mal90, u něhož však lze pozorovat poměrně velký rozptyl, jelikož byl na některé hodnotitele až příliš sladký. Mal10, nejméně sladký vzorek, byl ohodnocen výrazně hůře jako nejméně příjemný. Ze statistického zpracování pomocí Kruskal-Wallisovy ANOVY vyplývá, že vzorky se od sebe statisticky významně liší ($p = 0{,}0001$; $p<\alpha$)., přičemž největší statistický rozdíl byl mezi vzorky mal10 a mal50 ($p < 0{,}0001$; $p<\alpha$).



Graf 5: Vliv stévie na flavour želé cukrovinky

Stévie byla obecně z použitých sladidel hodnocená v podstatě nejhůře (viz Graf 5 a 6). Z Grafu 5 lze lehce vypozorovat zmíněný klesající trend s postupným vyšším přídavkem stévie. Statistické zpracování potvrdilo, že se vzorky od sebe statisticky významně liší ($p < 0{,}0001$; $p<\alpha$). Vzorek stv1 (s obsahem 0,1 g stévie) byl hodnocen nejlépe, obsahoval nejnižší přídavek tohoto sladidla, následovaný vzorkem s přídavkem stv2 (s obsahem 0,2 g stévie), kde lze vidět i poměrně velkou odchylku měření, pravděpodobně kvůli sílící typické pachuti stévie. Vzorek stv4 s přídavkem 0,4 g stévie, jejíž pachuť byla hodnotitelům v této intenzitě velmi nepříjemná,

byl hodnocen nejhůře, a to nejen v rámci série želé se stévií, ale i v porovnání s ostatními sladidly (lze vidět v Grafu 6).



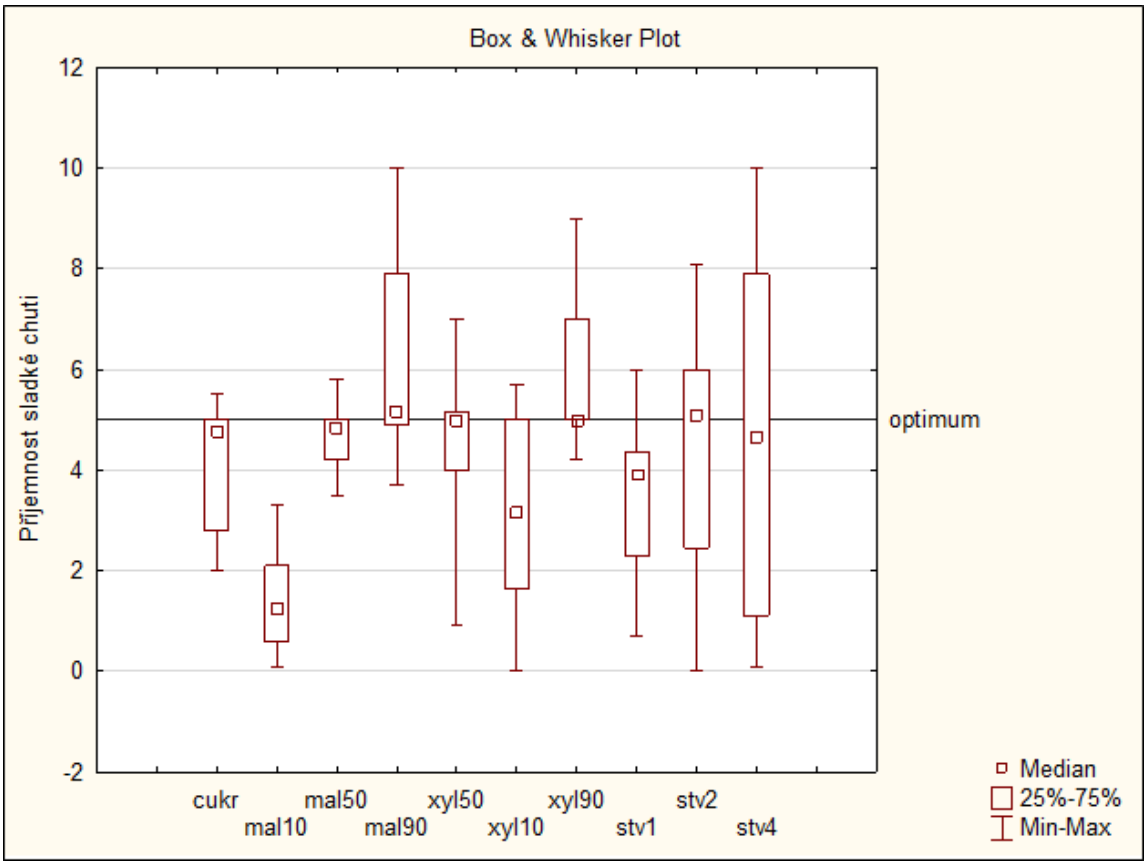
Graf 6: Celkové srovnání vlivu použitých sladidel na flavour vyrobených želé pochoutek

Pokud srovnáme všechny uvedené vzorky (Graf 6), jako výrazně nejlepší se jeví mal50, naopak znatelně nejhorší vzorek stv4. Ostatní vzorky byly z hlediska celkového flavouru hodnoceny poměrně vyrovnaně.

4.2.1.2 Hodnocení příjemnosti sladké chuti

V Tabulce 8 je možné vidět také hodnocení želé cukrovinek z hlediska příjemnosti sladké chuti ve formě mediánu, kvůli nenormální distribuci dat. Každý hodnotitel má totiž své preference intenzity, respektive příjemnosti sladké chuti, a proto byl výrazný i rozptyl jejich hodnocení.

Výsledky jsou znázorněny v Grafu 7, přičemž v tomto případě hodnota 5 (značená v grafu silnější linií) ukazuje dle hodnotitelů optimálně sladké želé. Po statistickém zpracování pomocí Kruskal-Wallisova testu vyplynulo, že celkově se vzorky od sebe statisticky významně liší ($p < 0{,}0001$; $p<\alpha$)., přičemž při detailnějším rozboru bylo zjištěno, že nejvíce statisticky rozdílná byla série s maltitolem ($p < 0{,}0001$; $p<\alpha$), následována sérií s želé slazeným xylitolem ($p = 0{,}0036$; $p<\alpha$). Samotná série vzorků slazených stévií v hodnocení příjemnost sladké chuti se na hladině α významně statisticky neliší ($p = 0{,}5094$; $p>\alpha$).



Graf 7: Hodnocení vzorků z hlediska příjemnosti sladké chuti; 1 – málo sladké; 5 – optimum;10 – příliš sladké)

Hodnoty mediánu se v případě středně sladkých i nejsladších vzorků pohybují okolo linie optima, nejméně sladké pak mezi hodnotami 1–4. U nejsladších vzorků mal90 a xyl90 byla střední hodnota avšak „boxy“ ukazují, že horní kvartil již převyšuje ideální hladinu sladkosti.

Zvláštním případem byl vzorek stv4, nejsladší vzorek s použitým sladidlem stévie. Hodnota mediánu se sice pohybuje blízko optima, avšak rozptyl hodnocení je nejvýraznější ze všech testovaných vzorků. Tento jev lze poměrně jednoduše vysvětlit díky slovnímu hodnocení, které doprovázelo test profilových chutí. Velká část respondentů totiž vyšší přídavek stévie už neidentifikovala jako příliš sladký, ale spíše nahořklý, či kovový, což je pro pachuť stévie typické. Od toho se tedy odvíjelo i hodnocení – jelikož byl obsah sladidla nejvyšší, někteří hodnotitelé dle předpokladů označili tento vzorek za příliš sladký, naopak v některých vzorek neevokoval sladkou chuť, ale spíše hořkou.

Středně sladké vzorky xyl50, mal50 a stv2 byly hodnoceny velmi blízko hodnoty optima, podobně jako vzorek standardní. Je zajímavé, že vzorek mal50 byl hodnocen lehce pod optimální hodnotou, avšak je touto hodnotou nejblíže vzorku standardnímu a byl ohodnocen jako chuťově nejlepší.

Dle očekávání vzorky s nejnižším přídavkem sladidla byly ohodnoceny jako nedostatečně sladké. Jako nejméně sladký byl označen vzorek mal10, následován xyl10, který však měl již větší rozptyl hodnocení a je zřejmé, že některým hodnotitelům jeho nevýrazná sladká chuť vyhovovala. Stévie je svou sladivostí z použitých sladidel nejsilnější, a tedy i její nejnižší

přídavek 0,1 g byl v hodnocení optima sladké chuti výraznější, bohužel však u stévie hodnocení negativně ovlivňovala její pachuť, byť v tomto nižším množství nebyla tak znatelná.

4.2.2 Chuťový profil želé

V rámci profilového testu byly zvoleny 4 chuťové deskriptory – kyselá, sladká, umělá a případně jiná (pachuť). Jelikož data vykazovaly nenormální distribuci, jsou v Tabulce 9 vyhodnocena pomocí mediánu.

Tabulka 9: Vliv použitých sladidel na vybrané chuťové deskriptory

Vzorek	Profilový test			
	Kyselá	Sladká	Umělá	Jiná
cukr50	3,2 ± 1,9	6,3 ± 2,2	1,0 ± 2,4	0,1 ± 0,2
mal10	5,5 ± 2,6	1,4 ± 1,3	3,4 ± 3,8	nd
mal50	3,8 ± 1,8	4,9 ± 2,0	1,0 ± 1,7	nd
mal90	6,2 ± 3,0	6,9 ± 1,8	1,2 ± 2,9	nd
xyl10	5,3 ± 1,7	2,5 ± 2,1	1,0 ± 2,9	nd
xyl50	5,2 ± 2,4	5,2 ± 1,6	0,9 ± 2,4	nd
xyl90	5,8 ± 2,6	6,4 ± 1,6	0,2 ± 1,4	nd
stv1	3,9 ± 2,3	3,4 ± 2,0	1,4 ± 2,6	0,7 ± 2,4
stv2	2,8 ± 2,5	5,7 ± 2,5	4,9 ± 2,7	3,9 ± 2,9
stv4	3,2 ± 2,7	4,2 ± 3,4	5,8 ± 3,3	6,4 ± 3,7

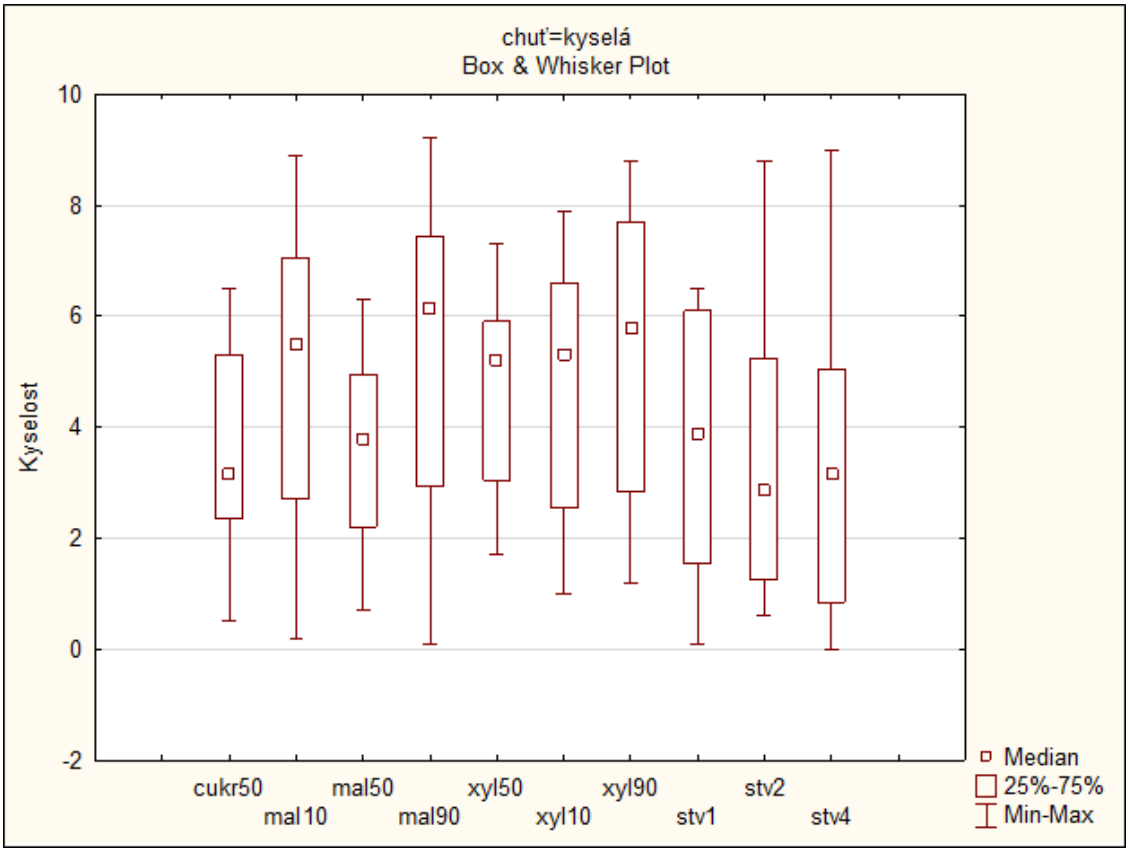
*(*Použitá stupnice: neznatelná → velmi výrazná (výsledky uvedeny v cm); identifikace vzorků viz Tabulka 7; nd – nebyla detekována)*

V grafické analýze (Graf 8) je zobrazen vliv sladidel na kyselost vyrobených želé výrobků. Při prvním pohledu na uvedená data by teoreticky šlo usuzovat, že s rostoucím přídavkem sladidla bude klesat vnímání kyselé chuti, jelikož ji množství sladidla chuťově zastíní. Nicméně při statistickém zpracování bylo zjištěno, že přestože je hodnota α hraniční, množství sladila nemá na jiné chutě statisticky tak významný vliv, jak by se očekávalo ($p = 0{,}0598$; $p>\alpha$).

Konkrétně u maltitolových vzorků bylo zjištěno, že vnímání kyselosti ovlivňuje množství přidaného sladidla. Nejsilnější kyselost zaznamenali hodnotitelé u vzorků s nejvyšší koncentrací maltitolu, mal90, poměrně velký rozptyl naznačuje rozmanitost v odpovědích. Vzorek mal10, s nejnižším obsahem maltitolu, byl hodnocen také jako relativně kyselý, což může poukazovat na vyšší vnímání kyselosti při nižších koncentracích tohoto sladidla. Naopak vzorek mal50 dosáhl hodnoty blízké standardnímu vzorku se sacharosou, naznačující, že tato koncentrace může poskytovat ideální vyváženost mezi sladkostí a kyselostí, což vedlo k mírnějšímu vnímání kyselosti u konzumentů.

Efekt xylitolu na kyselost želé výrobků poukázal na podobný, avšak ne tak výrazný trend. Vzorek xyl90 byl z hlediska vnímání kyselosti nejvýraznější, což může odrážet i vlastní chuťové vlastnosti tohoto sladidla, které se mohou projevovat silněji ve vysokých dávkách. Xyl10 byl hodnocen jako kyselejší než xyl50, avšak ne se signifikantním rozdílem.

Stévie, reprezentovaná vzorky stv1, stv2 a stv4, vykazovala podobný vzor, opět vzorek se středním přídavkem sladidla byl ohodnocen jako nejméně kyselý, nejsilnější kyselost vyvolal vzorek s nejnižší koncentrací stévie, pravděpodobně protože nebyl překrytý jiným chuťovým deskriptorem. Vzorek s nejvyšším přídavkem stv4 byl hodnocen podobně jako stv2 a hodnotou mediánu se přiblížil hodnocení standardu. Stále však měl stv4 mnohem větší rozptyl hodnocení, což naznačuje, že vnímání kyselosti u tohoto vzorku bylo mezi hodnotiteli velice rozdílné.



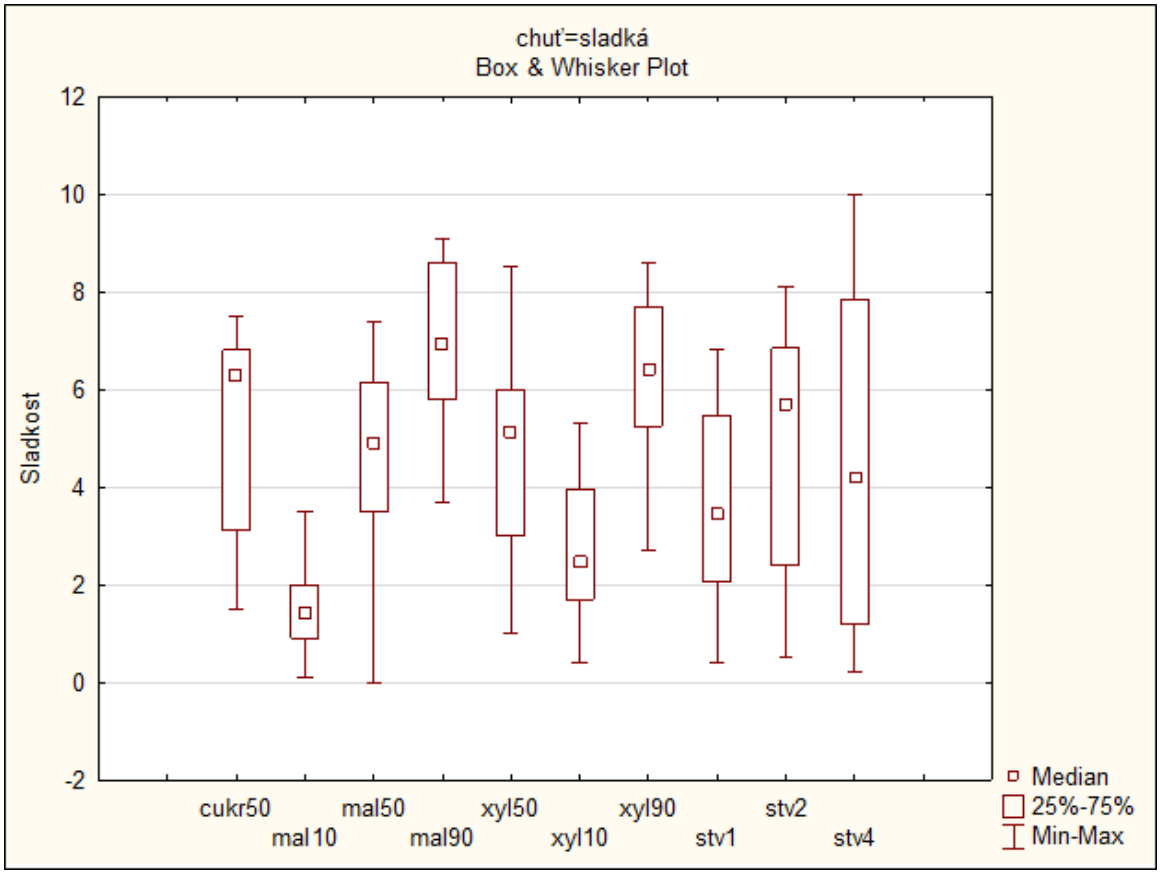
Graf 8: vliv použitých sladidel na vnímání kyselé chuti

Ve vnímání sladké chuti je podle očekávání patrný přímý vliv koncentrace sladidel na intenzitu sladkosti a mezi jednotlivými vzorky existovaly statisticky významné rozdíly ($p < 0{,}0001$; $p<\alpha$). Xylitol a maltitol ukazují očekávanou korelaci, kde s vyšším přídavkem sladidla vzrůstá i vnímání sladkosti, což je vidět u mal90 a xyl90, hodnocených jako nejsladší (viz Graf 9).

Mal10, xyl10 i stv1 obsahovaly ve své sérii nejméně sladidla a hodnocení panelistů tomuto faktu odpovídalo. Vzorky se středními koncentracemi sladidla (mal50, xyl50 a stv2) vykazovaly vyšší hodnocení sladkosti a byly ohodnoceny velmi podobně. V případě vzorku

stv4 je ale rozsah hodnocení poněkud širší, což znamená, že stévie má pravděpodobně intenzivnější sladký profil ve srovnání s tradičními sladidly.

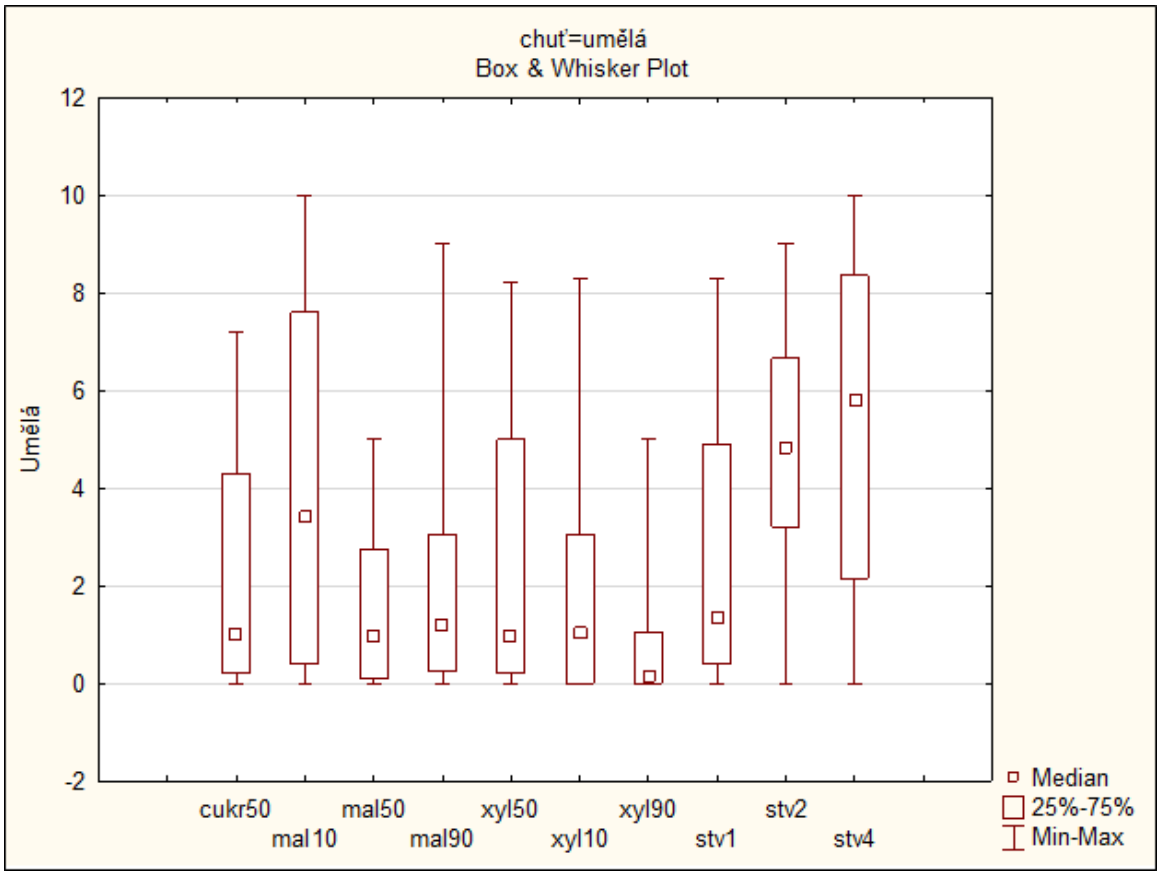
Vzorky s nejvyšším obsahem sladidla mal90 a xyl90 byly dle předpokladu ohodnoceny jako nejsladší, výjimkou byl ale vzorek se stévií stv4, který navzdory vysokému obsahu sladidla hodnotitelé vnímali jako méně sladký. Má široký interkvartilový rozptyl a celkově extrémní minimální a maximální hodnoty. Tato široká variabilita svědčí o rozdílném vnímání intenzity sladkosti stévie mezi jednotlivými degustátory, což může být dáno jejím unikátním chuťovým profilem. Jak již bylo zmíněno, stévie je známá tím, že její sladkost je obvykle vnímána intenzivněji a příjemněji při nižších koncentracích, než je tomu u jiných sladidel, naopak při vyšších dávkách může mít hořké pozadí chuti, což hodnocení negativně ovlivní.



Graf 9: Vliv použitých sladidel na vnímání sladké chuti želé

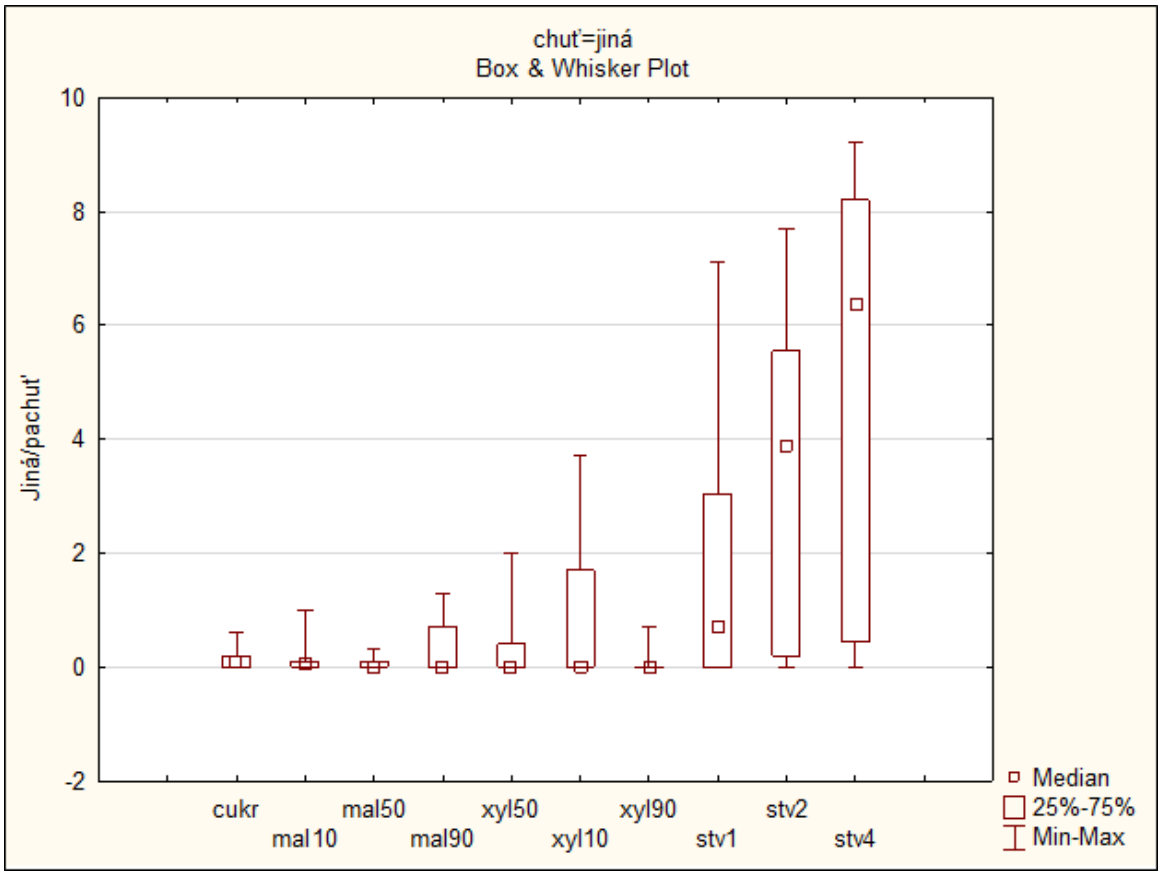
Co se týče posledních dvou deskriptorů (umělá a jiná), výsledky byly velmi nesourodé, jelikož někteří respondenti buď danou chuť nepocítili nebo ji neuvedli. Z toho důvodu jsou data velmi rozptýlená, jak lze vidět i na hodnotách minima a maxima (např. stejný vzorek může jeden respondent ohodnotit hodnou 10 – velmi silné vnímání daného deskriptoru, a jiný hodnotitel hodnotou 0 – daný deskriptor ve vzorku necítí). Graf vnímání umělé chuti (Graf 10) ukazuje, že tento specifický chuťový deskriptor není nutně propojen s rostoucí koncentrací použitého sladidla (viz xylitol a maltitol). Naopak, širší rozptyl hodnocení lze zaznamenat napříč různými koncentracemi, což může naznačovat, že vnímání umělé chuti může být ovlivněno jinými

faktory (např. individuální chuťovou sensibilitou či přítomností dalších ingrediencí, které pak dokáží modifikovat celkový chuťový dojem) a i statisticky se jednotlivé vzorky mezi sebou významně liší ($p = 0{,}0001$; $p<\alpha$). Významnější umělou chuť vykazoval, kromě vzorků se stévií i vzorek mal10, což je zajímavé, jelikož obsahuje nejnižší koncentraci tohoto sladidla. U stévie lze pozorovat očekávaný trend, kdy se se zvyšující koncentrací sladidla zvyšuje i vnímání umělé chuti, přičemž vzorek stv4 byl ohodnocen ze všech vzorků jako nejvíce evokující umělou chuť.



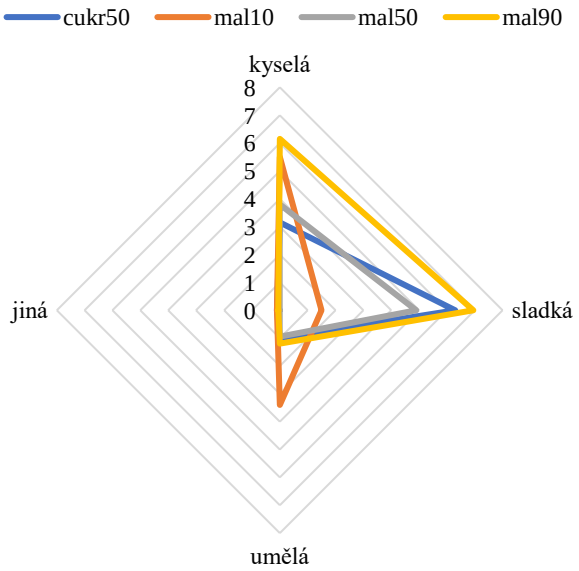
Graf 10: Vliv sladidel na vnímání umělé chuti

Poslední deskriptor byl uveden pro případ, že by hodnotitelé cítili ve vzorku želé ještě další chuť, než byly uvedené tři deskriptory či cítili pachuť, které náhradní sladila mohou vykazovat (viz Graf 11). Většina vzorků žádnou další pachuť nevykazovala, respektive hodnotitelé ji nedetekovali, hodnoty mediánu se blíží 0. Pouze u vzorků slazených stévií lze pozorovat, že se zvyšující se koncentrací tohoto sladidla cítili hodnotitelé také vyskytující se pachuť, často označovanou jako nahořklou či kovovou. Nejvýrazněji ji evokovaly vzorky stv2 a stv4, o něco méně pak stv1. Dle očekávání i statistika potvrdila, že se vzorky mezi sebou statisticky liší ($p = 0{,}0003$; $p<\alpha$).



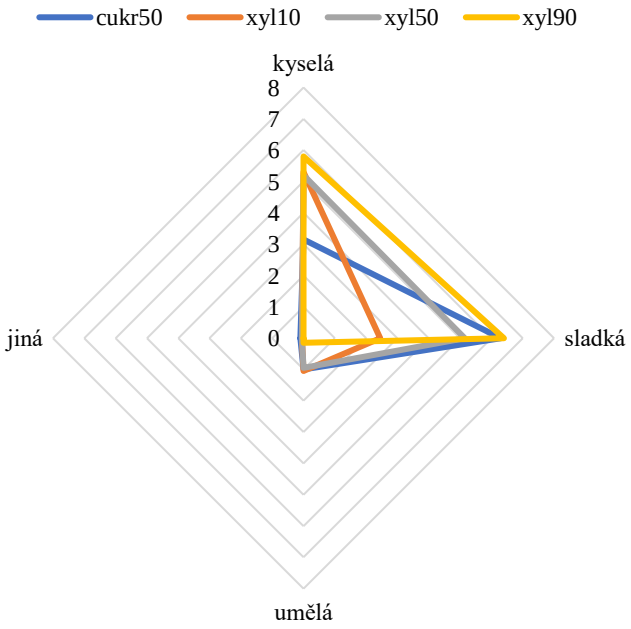
Graf 11: Vliv použitých sladidel na vnímání případné pachuti

Pro lepší zobrazení chuťového profilu vyrobených želé jsou následně uvedeny také paprskové grafy, které souhrnně zobrazují všechny deskriptory daných vzorků a lze tedy lépe provést porovnání daných chuťových profilů. Výsledky jsou opět uvedeny pomocí mediánu.



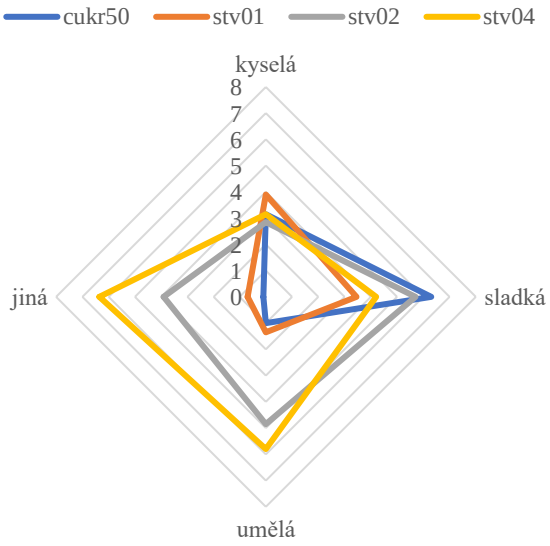
Graf 12: chuťový profil vzorků slazených maltitolem

Na paprskovém grafu (Graf 12) jsou prezentovány chuťové profily želé bonbonů slazených maltitolem. Z grafu je patrné, že standardní vzorek cukr50 naznačuje vyvážený chuťový profil bez výrazných extrémů. Také je vidět, že mal50 je svým profilem nejvíce podobný standardu, a také byl nejlépe ohodnocen. Je zajímavé, že vzorek s nejnižším přídavkem sladidla i s tím nejvyšším vykazovaly poměrně silnou kyselost, což respondenty nebylo hodnoceno celkově příliš kladně.



Graf 13: Chuťový profil vzorků slazených xylitolem

Graf 13 zobrazuje chuťový profil vzorků slazených xylitolem. Z grafu 13 je patrná rostoucí intenzita sladké chuti se zvyšující se koncentrací, zároveň ale vnímaní kyselosti zůstává u všech vzorků bez signifikantního rozdílu.



Graf 14: chuťový profil vzorků slazených stévií

Profil chutí želé slazeného stévií je už výrazně odlišný od ostatních sladidel (Graf 14). Kromě nižší intenzity kyselé chuti se zde projevuje výrazná umělá chuť i zmiňovaná pachuť, která hodnocení celé této série vzorků obecně velmi negativně ovlivnila.

Po vyhodnocení všech těchto kritérií bylo pro další práci vybráno a následně použito sladidlo maltitol v koncentraci 50% hm. roztoku.

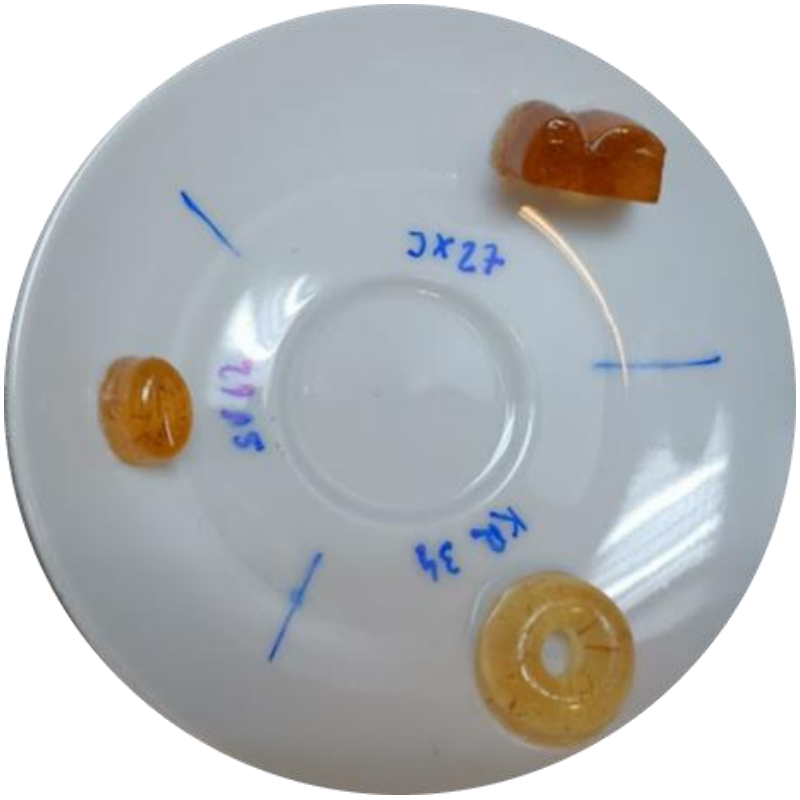
4.3 Optimalizace aplikace bylinných extraktů

Po optimalizaci výroby želé cukrovinek z hlediska obsahu a druhu sladidla, bylo také potřeba optimalizovat poslední zvolené parametry, a to množství přidávaného bylinného extraktu tužebníku a druh želírující látky.

Byly připraveny vždy tři série vzorků o různých koncentracích extraktu (2 %, 5 % a 8 %) pro obě používané želírující látky (želatina a agar). Optimální přídavek extraktu byl testován také pomocí senzorické analýzy, použitý dotazník je uveden v Příloze 2.

4.3.1 Želé cukrovinky s želatinovým želírujícím činidlem

Vzorky želé cukrovinek se želatinou a přídavky extraktu, které byly předloženy na senzorické analýze, lze vidět na Obrázku 7.



Obrázek 7: Vzorky želatinových cukrovinek s přídavkem extraktu tužebníku (KR – 2 %, SV – 5 %, JX – 8 %)

Data získaná ze senzorické analýzy jsou uvedena v Tabulkách 10 a 11.

V první části byla hodnocena intenzita a příjemnost barvy, intenzita vůně a příjemnost chuti (flavouru) a konzistence vyrobených vzorků. Z naměřených dat je patrné, že se zvyšujícím se přídavkem extraktu podle očekávání rostla i intenzita barvy, zároveň s tímto trendem rostla

i příjemnost barvy. Dle předpokladu, s přibývajícím množstvím extraktu zesílilo aroma extraktu a hodnocení intenzity vůně tedy vzrostlo také. Vyšší koncentrace extraktu tužebníku vede dle očekávání k silnějšímu aroma profilu vzorku, což může být, stejně jako atraktivní zabarvení, spotřebiteli preferováno.

Z hlediska flavouru a konzistence cukrovinek výsledky opět ukázaly, že s rostoucí koncentrací extraktu se tyto parametry zlepšovaly (u parametru konzistence byla optimum hodnota 5. Obecně byly želatinové vzorky hodnotiteli považovány spíše za měkčí.

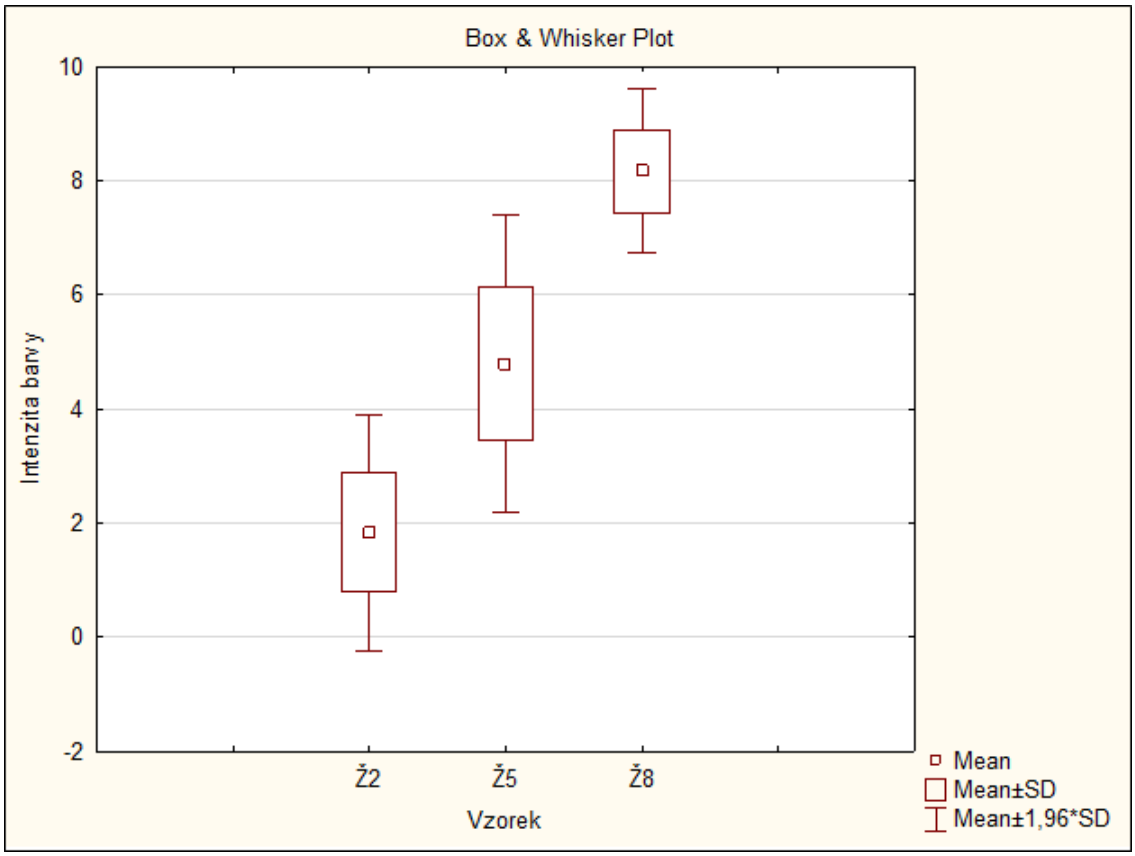
Nejnižší ohodnocení měl vzorek s 2 % extraktu, naopak nejlepší hodnocení zaznamenal vzorek s 8 % extraktu, vyšší podíl extraktu tedy může mít pro příjemnost chuti pozitivní přínos. Nicméně tato hodnocení nebyla nijak signifikantně odlišná, což bylo očekáváno i ve výsledcích ze statistických testů.

Při podrobnějším statistickém zpracování bylo zjištěno, že vzorky se statisticky významně liší z hlediska intenzity barvy a vůně, přičemž byly zjištěny následující p-hodnoty – intenzita barvy: $p < 0{,}0001$; $p<\alpha$ a intenzita vůně $p = 0{,}0003$; $p<\alpha$. Co se týče příjemnosti barvy, chuti a konzistence, se od sebe vzorky dle statistických testů v těchto parametrech významně neliší, jelikož byly zjištěny tyto p-hodnoty: příjemnost barvy $p = 0{,}4847$; $p>\alpha$, flavour $p = 0{,}7476$; $p>\alpha$ a konzistence $p = 0{,}1852$; $p>\alpha$. Graficky jsou tyto atributy zpracovány v Grafech 15 až 19.

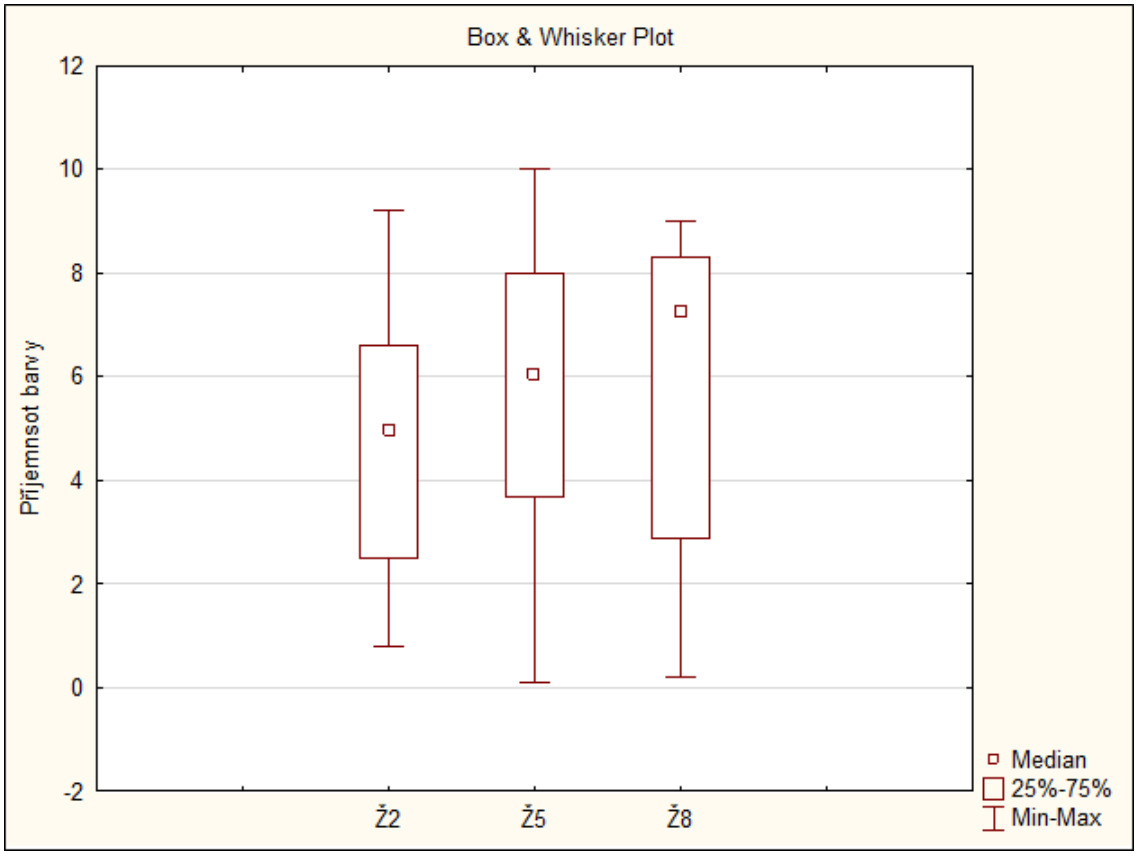
Tabulka 10: Senzorické hodnocení želatinových cukrovinek s různým přídavkem extraktu tužebníku

Množství extraktu	**Intenzita barvy**	**Příjemnost barvy**	**Intenzita vůně**	**Flavour**	**Konzistence**
Hodnoty:	*Průměr (cm)*	*Medián (cm)*	*Průměr (cm)*	*Medián (cm)*	*Průměr (cm)*
2 %	1,8 ± 1,1	5,0 ± 4,1	1,4 ± 0,1	6,3 ± 3,5	3,6 ± 1,7
5 %	4,8 ± 1,3	6,1 ± 4,3	3,5 ± 2,3	7,0 ± 3,5	4,1 ± 1,6
8 %	8,2 ± 0,7	7,2 ± 5,4	5,5 ± 2,9	7,7 ± 2,9	4,5 ± 1,3

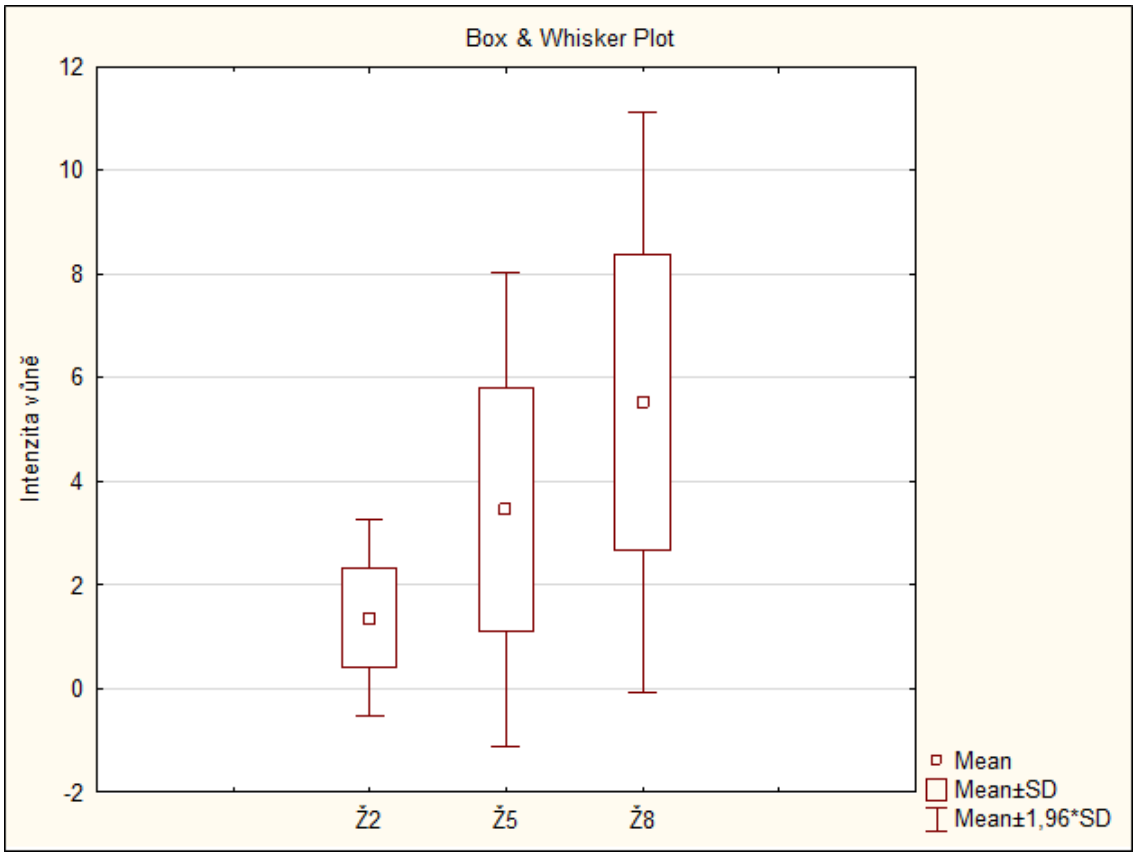
*(*Použité stupnice: nejméně intenzivní → nejvíce intenzivní; nejméně příjemná → nejvíce příjemná; příliš měkká → příliš tuhá)*



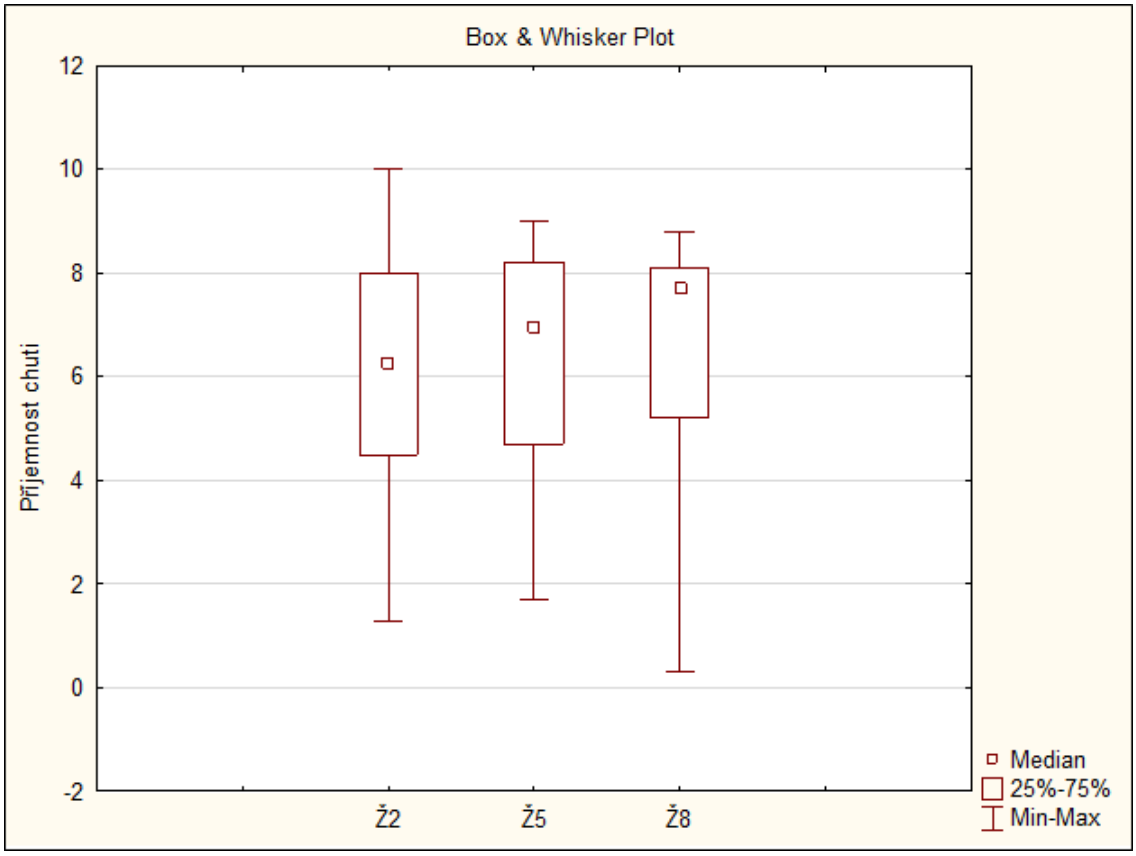
Graf 15: Vliv množství přidaného extraktu na intenzitu barvy



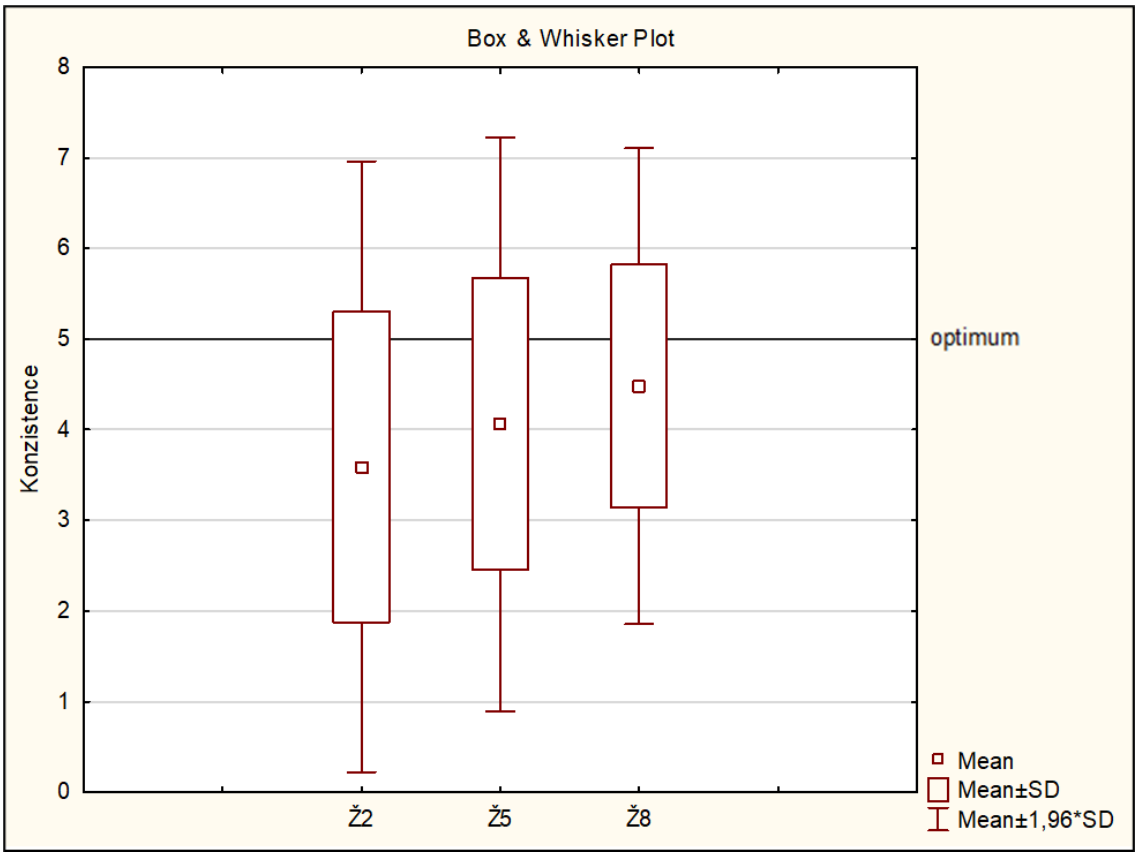
Graf 16: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na příjemnost barvy



Graf 17: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na intenzitu vůně



Graf 18: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na příjemnost chuti



Graf 19: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na konzistenci

Součástí tohoto senzorického hodnocení byl také profilový test vybraných chutí (kyselá, sladká, hořká a popř. jiná/pachuť). Výsledky této části analýzy jsou uvedeny v Tabulce 11.

Z naměřených dat i z grafického zpracování (především z paprskového grafu) je zřejmé, že přídavek extraktu tužebníku jilmového neměl na vybrané deskriptory příliš velký vliv.

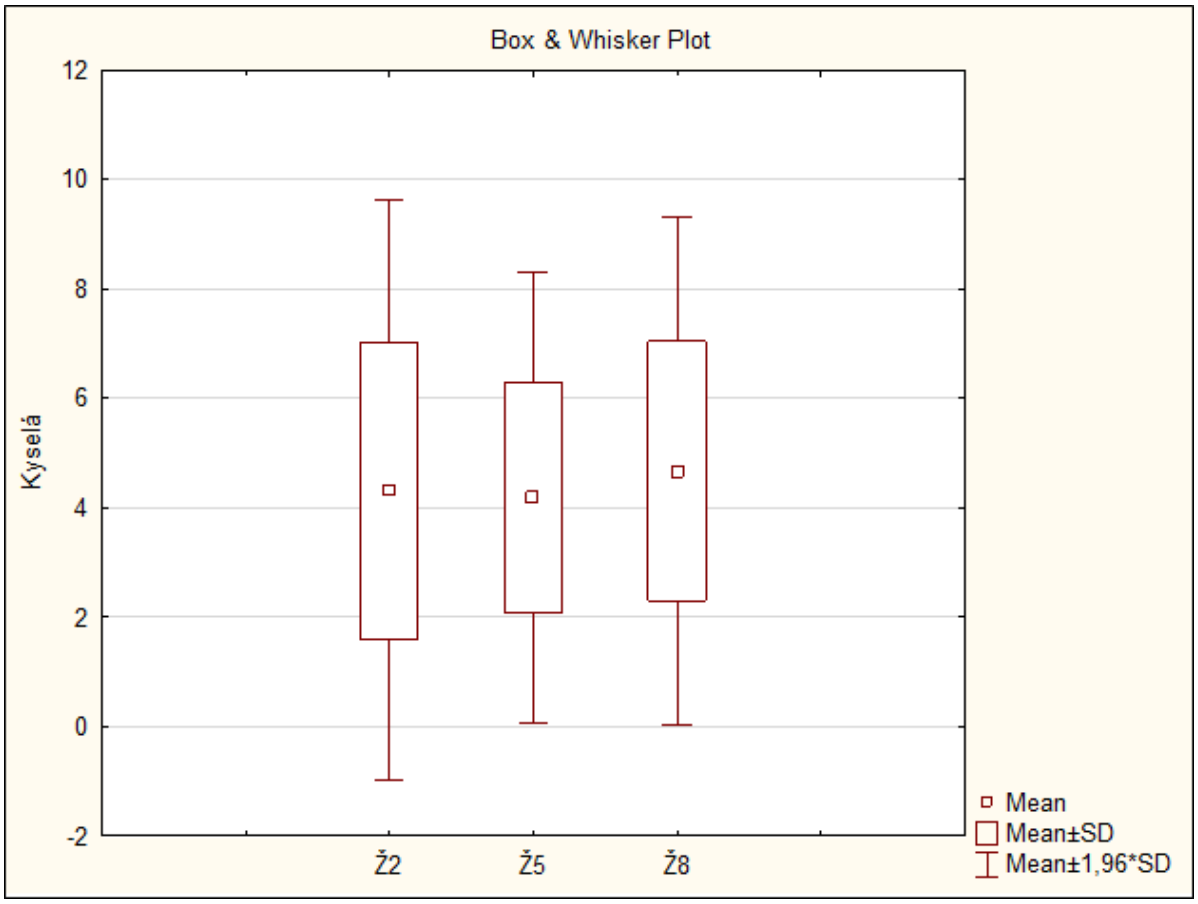
Dle očekávání se s vyšším obsahem extraktu lehce zvýšila hořká chuť, jiná/pachuť nebyla nijak významně ovlivněna. Zajímavé je vnímání sladké chuti, kdy nejvyšší hodnoty dosáhl vzorek Ž8 s nejvyšším obsahem extraktu (8 %), což bylo neočekávané, jelikož extrakt má lehce nakyslou chuť, u které by se předpokládalo, že zastíní vnímání sladkosti. To se ovšem nestalo, byť byl ohodnocen zároveň i jako nejkyselejší.

Nicméně statistickým zpracováním bylo zjištěno, že vzorky se od sebe z hlediska žádného deskriptoru významně neliší. Konkrétní p-hodnoty pro jednotlivé chutě byly: kyselá ($p = 0{,}7859$; $p>\alpha$), sladká ($p = 0{,}1835$; $p>\alpha$), hořká ($p = 0{,}3600$; $p>\alpha$), jiná ($p = 0{,}9905$; $p>\alpha$). Toto statistické zpracování je graficky zobrazeno v Grafech 20 až 23. Jelikož data pro sladkou a kyselou chuť vykazovala normální distribuci, jsou výsledky uvedeny jako průměrné hodnoty, naopak data pro hořkou a jinou chuť měly nenormální distribuci, proto byl pro vyhodnocení použit přesnější medián.

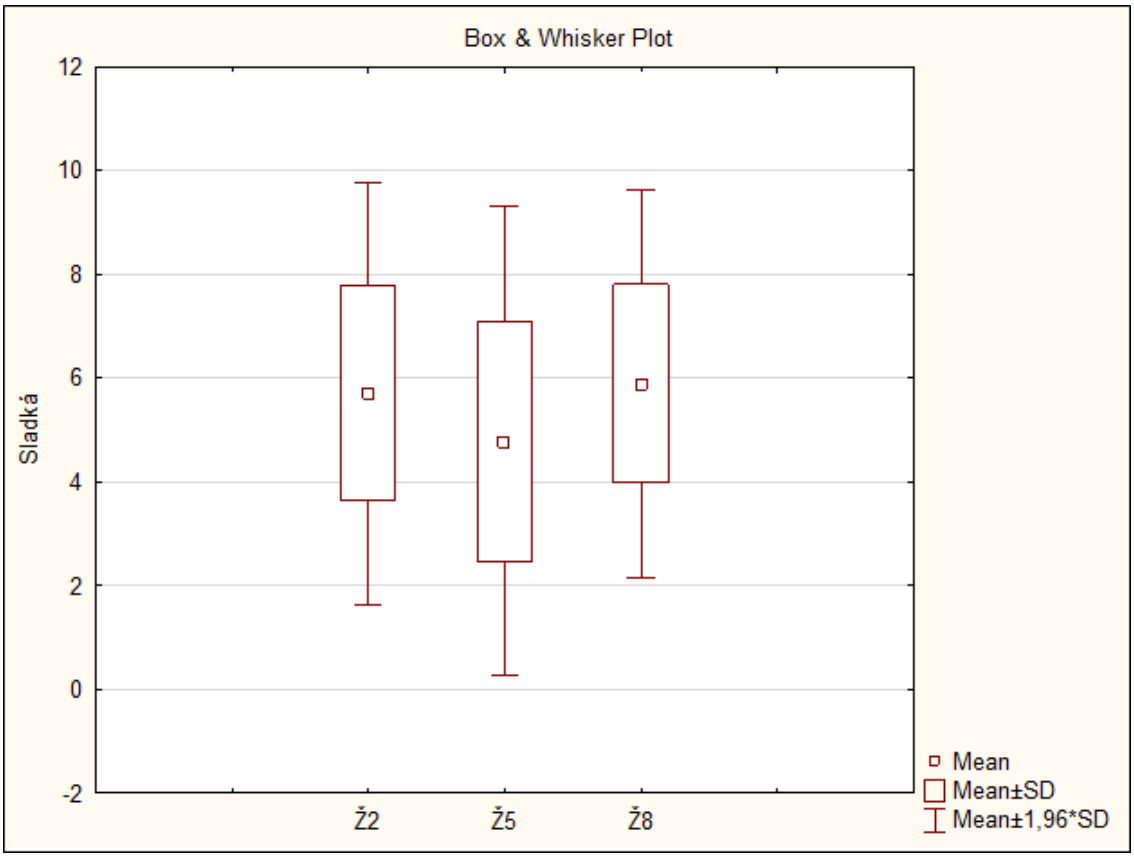
Tabulka 11: Profilový test vybraných chutí želatinových cukrovinek s různým přídavkem extraktu tužebníku

Množství extraktu	Profilový test vybraných chutí			
	Kyselá	**Sladká**	**Hořká**	**Jiná**
2 %	4,3 ± 2,7	5,7 ± 2,1	0,2 ± 0,3	nd
5 %	4,2 ± 2,1	4,8 ± 2,3	0,2 ± 1,0	nd
8 %	4,7 ± 2,4	5,9 ± 1,9	0,5 ± 2,2	nd

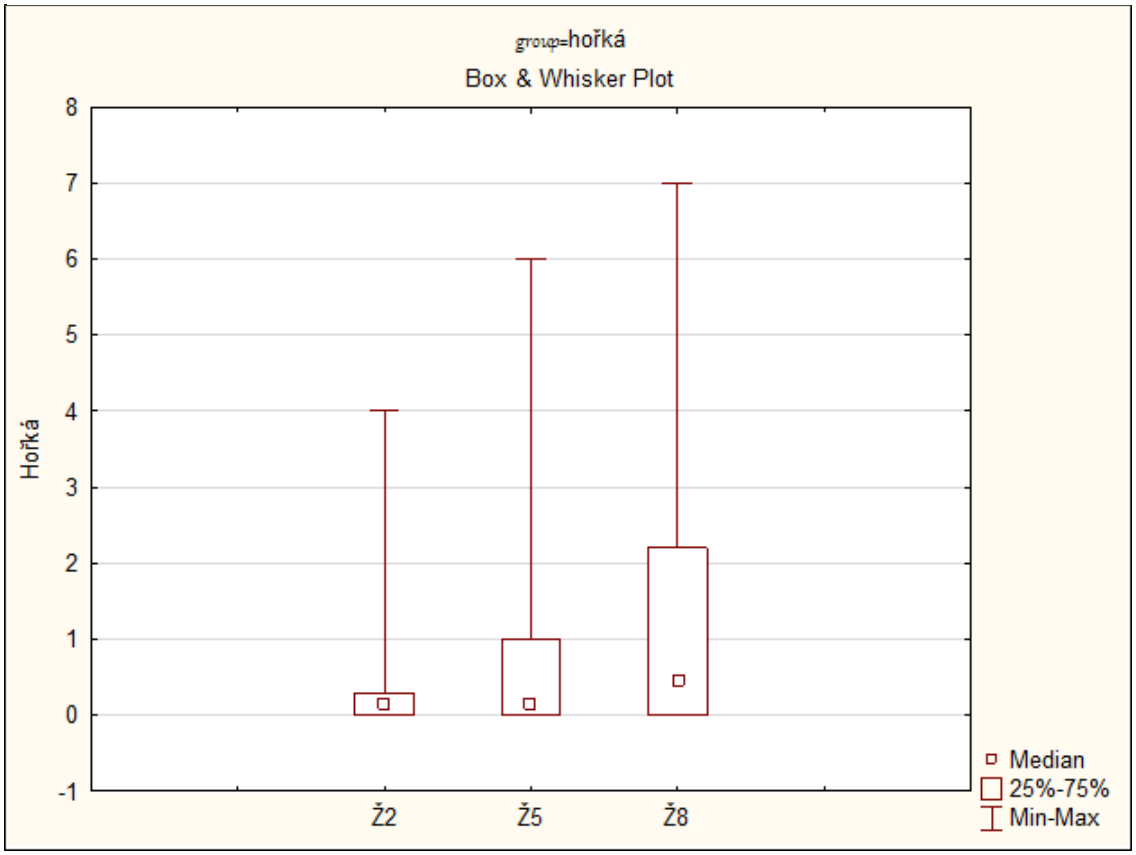
*(*Použitá stupnice: neznatelná → velmi výrazná (výsledky uvedeny v cm), nd – nebyla detekována)*



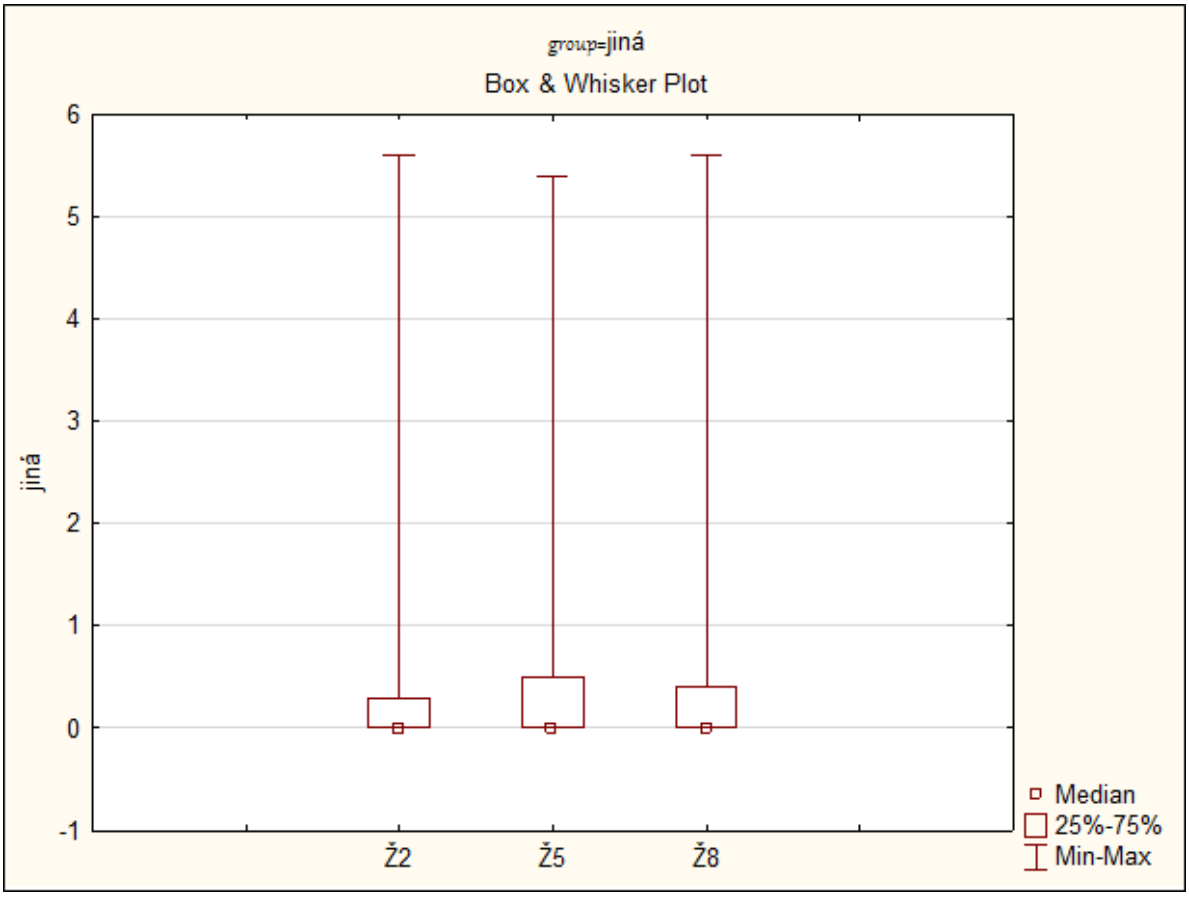
Graf 20: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání kyselé chuti



Graf 21: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání sladké chuti

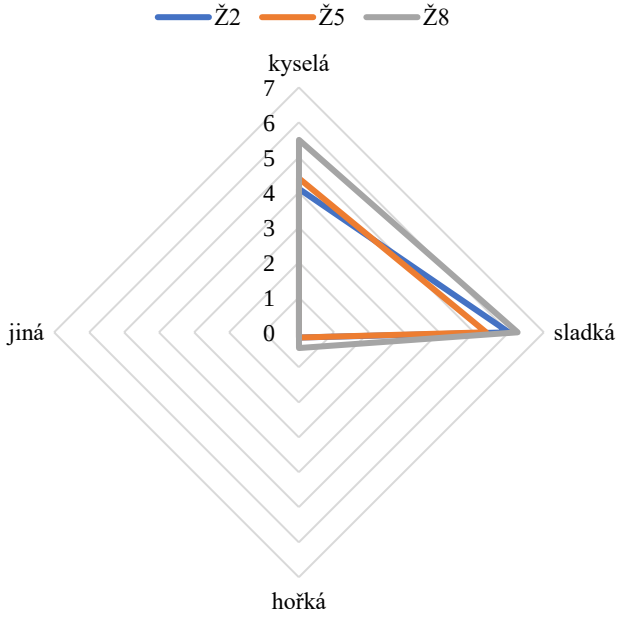


Graf 22: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání hořké chuti



Graf 23: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání pachuti/„jiné" chuti

V následujícím paprskovém grafu (Graf 24) je zobrazen pro srovnání chuťový profil všech tří želatinových vzorků. Hodnoty jednotlivých deskriptorů jsou uvedeny ve formě mediánu, vzhledem k nenormální distribuci některých dat.



Graf 24: Paprskový graf chuťového profilu želatinových vzorků

4.3.2 Želé cukrovinky s agarovým želírujícím činidlem

Ve druhé sérii byly s maltitolem vyrobeny vzorky želé cukrovinek s agarem jako želírující látkou a stejnými přídavky extraktu (2 %, 5 % a 8 %). Tyto vzorky, předložené hodnotitelům, lze vidět na Obrázku 8.

Obrázek 8: Vzorky agarových cukrovinek s přídavkem extraktu tužebníku (PL – 2 %, CT – 5 %, EQ – 8 %)

Pro hodnocení byl použit totožný formulář, jako u želatinových cukrovinek (viz Příloha 2), výsledky jsou uvedeny v Tabulce 12 a 13.

Z dat v Tabulce 12 vyplývá, že s rostoucím množstvím přidaného extraktu rostla podle předpokladů intenzita barvy a vůně, tentýž trend byl pozorován u želatinových cukrovinek.

Tím ale podobnost s hodnocením předešlé série vzorků s želatinou končí, jelikož ostatní atributy vykázaly odlišné trendy. Zajímavé bylo hodnocení příjemnosti barvy – jako nejvíce vyhovující byl zvolen vzorek A2 (tedy s 2 % extraktu), následován nečekaně vzorkem s 8 % extraktu. Jako nejméně příjemný, byl s větším odstupem ohodnocen vzorek A5.

Co se týče flavouru, vyšší přídavky extraktu (5 a 8 %) byly ohodnoceny ve vzorcích lépe, naopak nejhorší byl dle hodnotitelů vzorek A2. Tento jev by se dal vysvětlit tím, že agar, který zde slouží jako želírující činidlo, má svou specifickou chuť, která hodnotitelům nevyhovuje. Vyšší přídavek extraktu tuto „pachuť“ pravděpodobně pomáhá zamaskovat.

Konzistence byla opět hodnocena pomocí strukturované stupnice, kde optimum byla střední hodnota 5. Nejblíže této hodnotě byl vzorek A2, tedy z této série konzistenčně nejvíce spotřebitelům vyhovující. Následován byl vzorkem A8 a jako nejtužší byl zvolen vzorek A5.

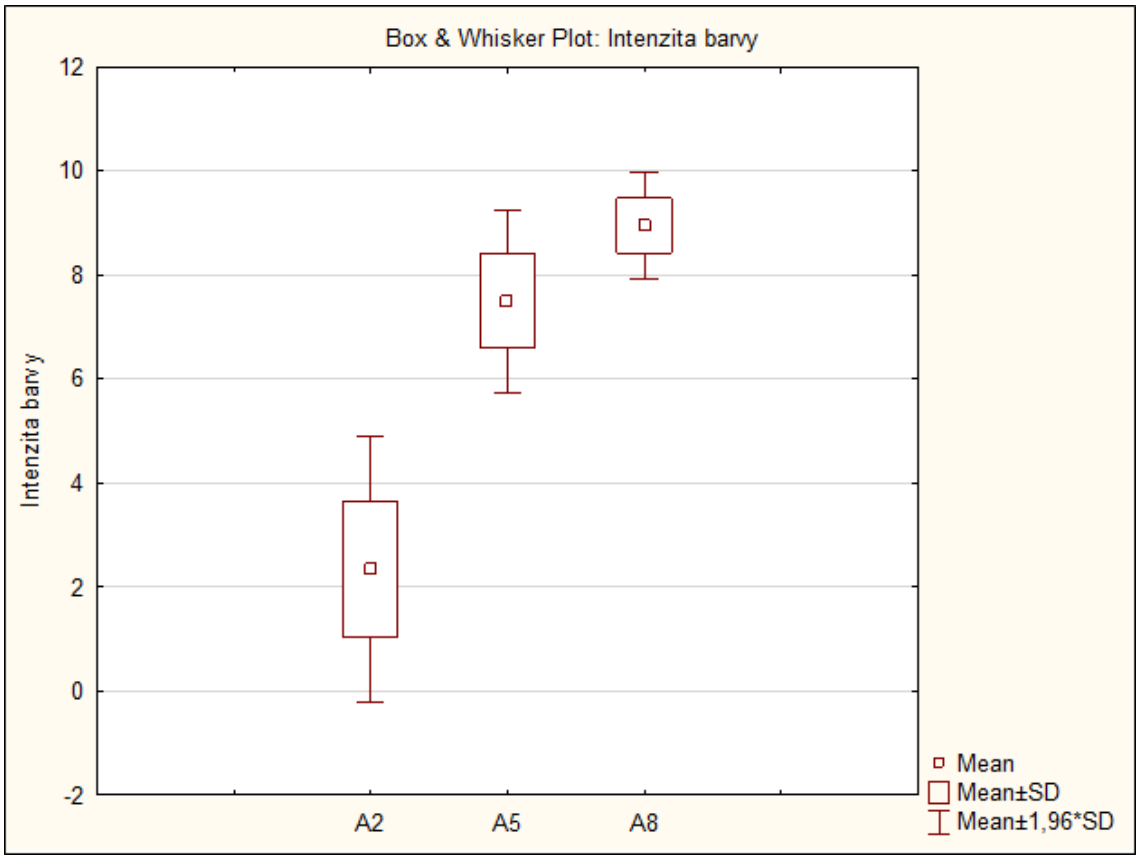
Obecně bylo agarové želé považováno za tužší, než by bylo pro spotřebitele optimální, a také tužší než želé vzorky s želatinou.

Detailnějším statistickým zpracováním bylo zjištěno, že pro intenzitu a příjemnost barvy i intenzitu vůně platí, že $p < 0{,}0001$; $p<\alpha$, z čehož plyne, že se vzorky z hlediska těchto kritérií statisticky významně liší. Liší se také z hlediska konzistence, avšak s o něco vyšší $p = 0{,}0106$; $p<\alpha$. Příjemnost chuti vzorků se však dle statistických testů významně neliší ($p = 0{,}1389$; $p>\alpha$).

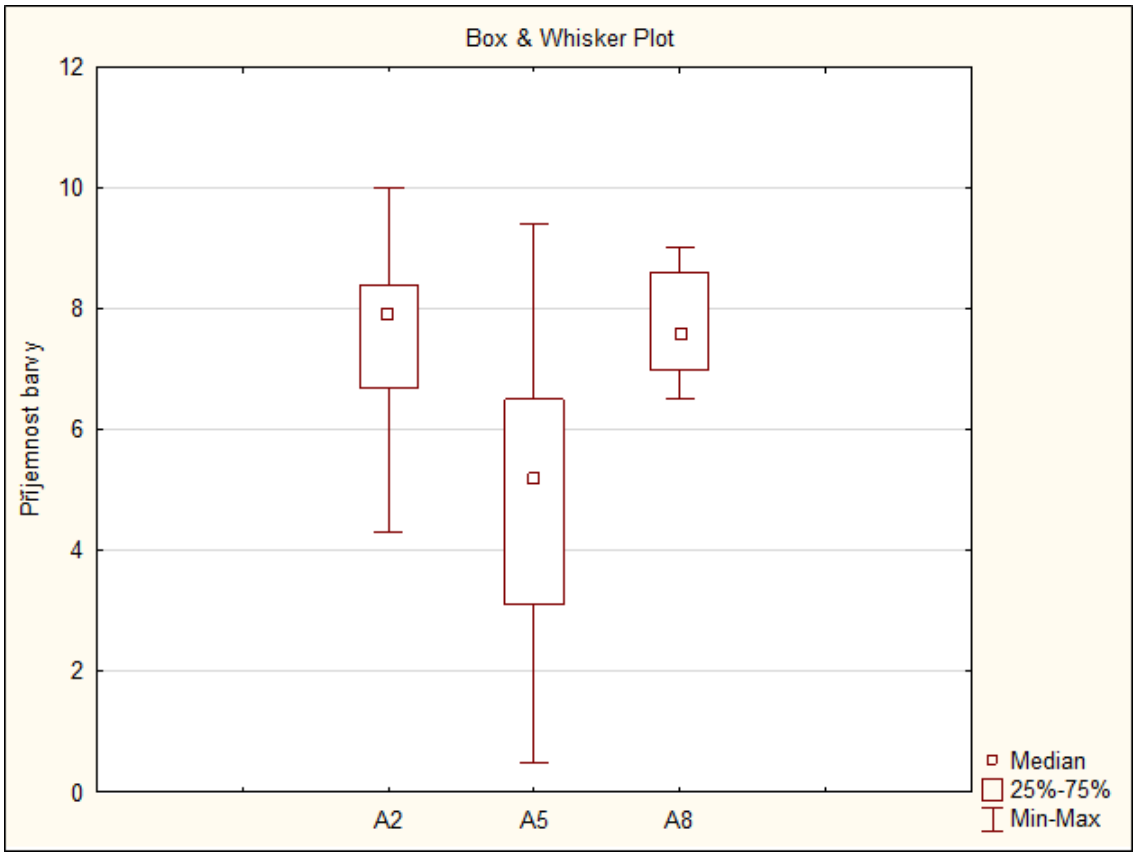
Grafické znázornění statistického zpracování je uvedeno v Grafech 25 až 29.

Tabulka 12: Senzorické hodnocení agarových cukrovinek s různým přídavkem extraktu tužebníku

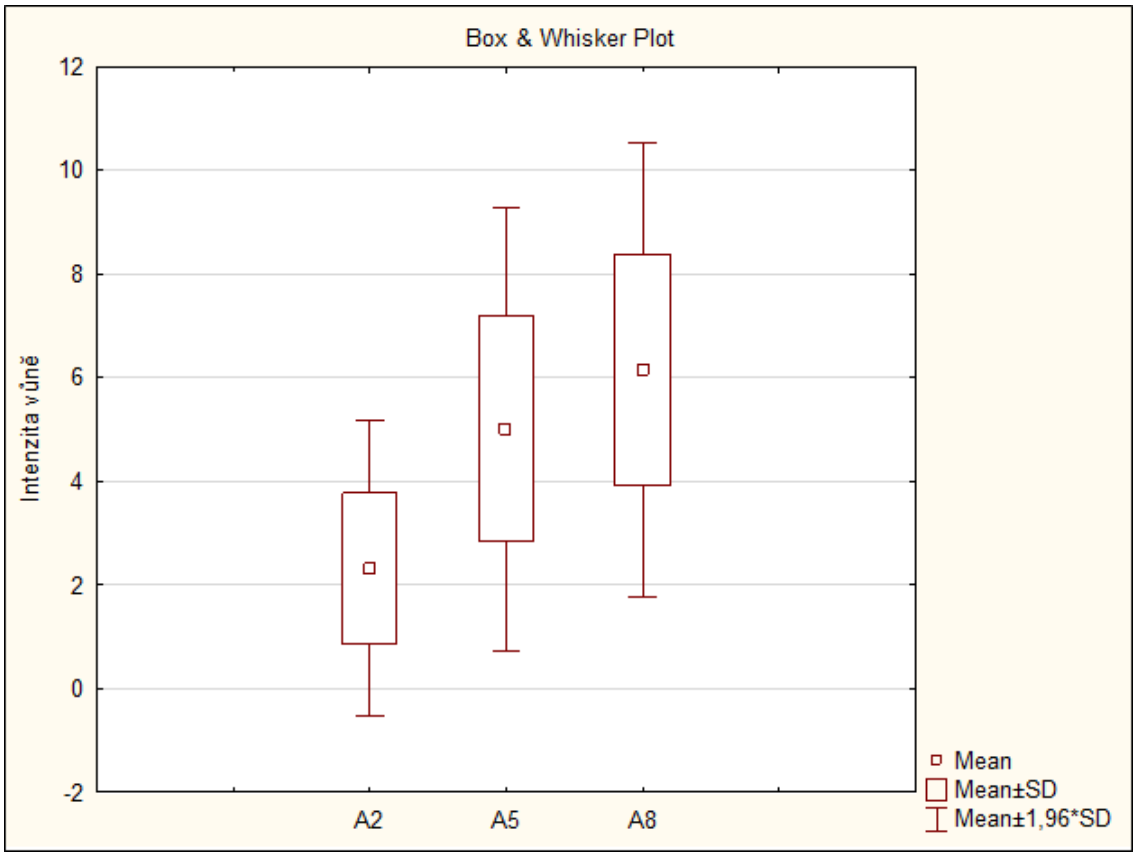
Množství extraktu	**Intenzita barvy**	**Příjemnost barvy**	**Intenzita vůně**	**Flavour**	**Konzistence**
Hodnoty:	*Průměr (cm)*	*Medián (cm)*	*Průměr (cm)*	*Průměr (cm)*	*Průměr (cm)*
2 %	2,4 ± 1,3	7,9 ± 1,7	2,3 ± 1,4	4,4 ± 3,1	6,2 ± 1,6
5 %	7,5 ± 0,8	5,2 ± 3,4	5,0 ± 2,1	5,9 ± 2,4	7,9 ± 1,5
8 %	8,9 ± 0,5	7,6 ± 1,6	6,2 ± 2,2	5,7 ± 2,6	6,6 ± 2,2



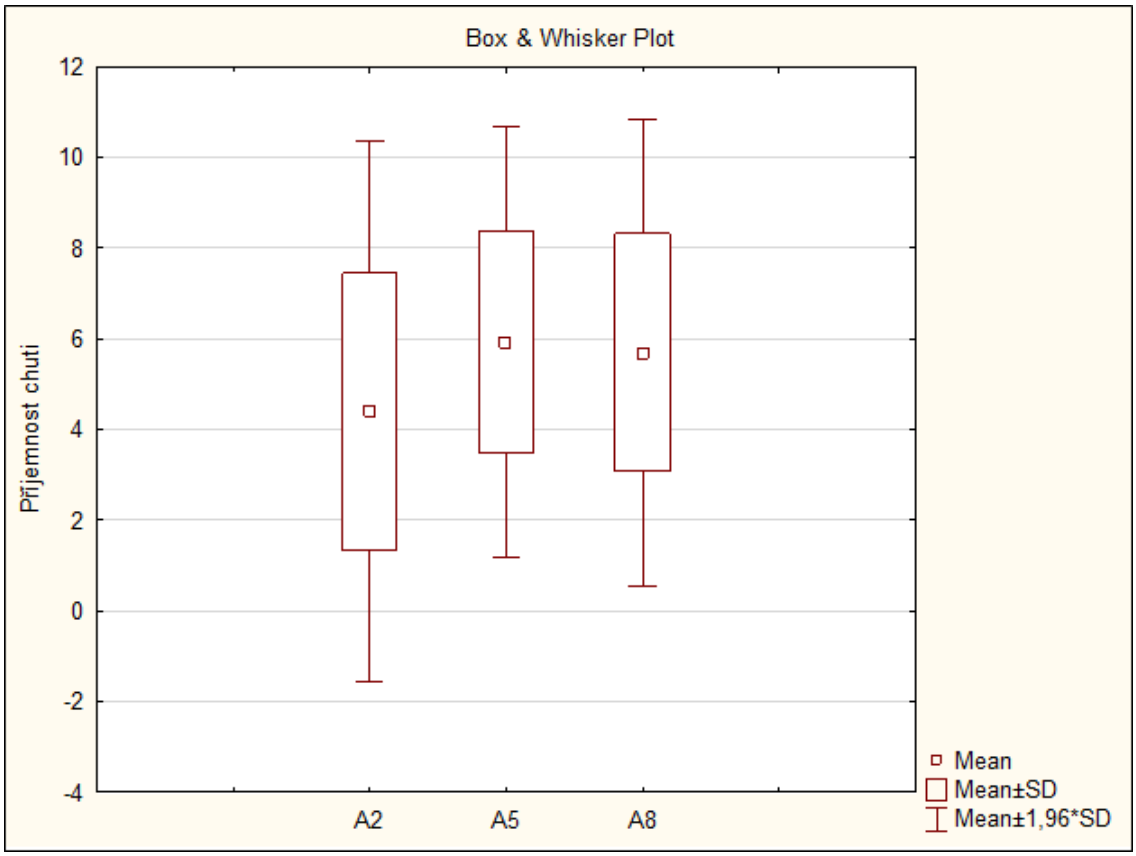
Graf 25: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na intenzitu barvy agarového želé



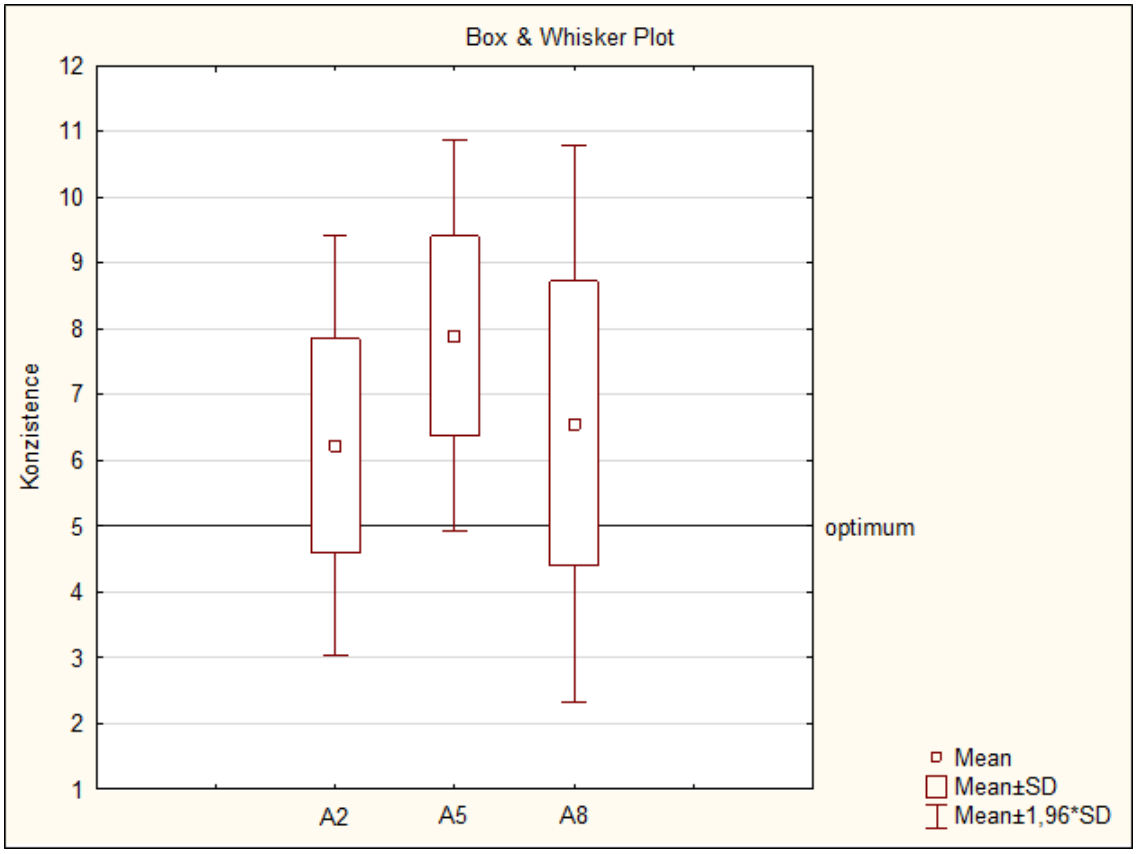
Graf 26: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na příjemnost barvy agarového želé



Graf 27: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na intenzitu vůně agarového želé



Graf 28: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na příjemnost chuti agarového želé



Graf 29: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na konzistenci agarového želé

I zde byl součástí profilový test vybraných chutí se stejnými deskriptory (kyselá, sladká, hořká a jiná/pachuť). Výsledky tohoto testu jsou v Tabulce 13.

Data ukazují, že přidaný extrakt měl znatelný vliv na vnímání sladké chuti, která s vyšším množstvím extraktu rostla. Stejně tak mírně vzrostlo vnímání hořké chuti od vzorku A2 až k A8. Jak je však patrné z maximálních hodnot, pro některé hodnotitele byla hořká chuť výrazná ve všech vzorcích.

Vnímání „jiné“ chuti se nejvíce projevilo u vzorku s 2 % extraktu A2. Dle předpokladu tuto pachuť však nelze přisoudit extraktu, jelikož ve vyšších procentech obsahu tato „jiná“ chuť dle hodnotitelů nebyla výrazná, ale naopak agaru, jehož pachuť je vyššími koncentracemi extraktu zamaskována. Kyselá chuť se s přídavkem extraktu příliš neměnila, nejznatelnější kyselost byla ve vzorku A8.

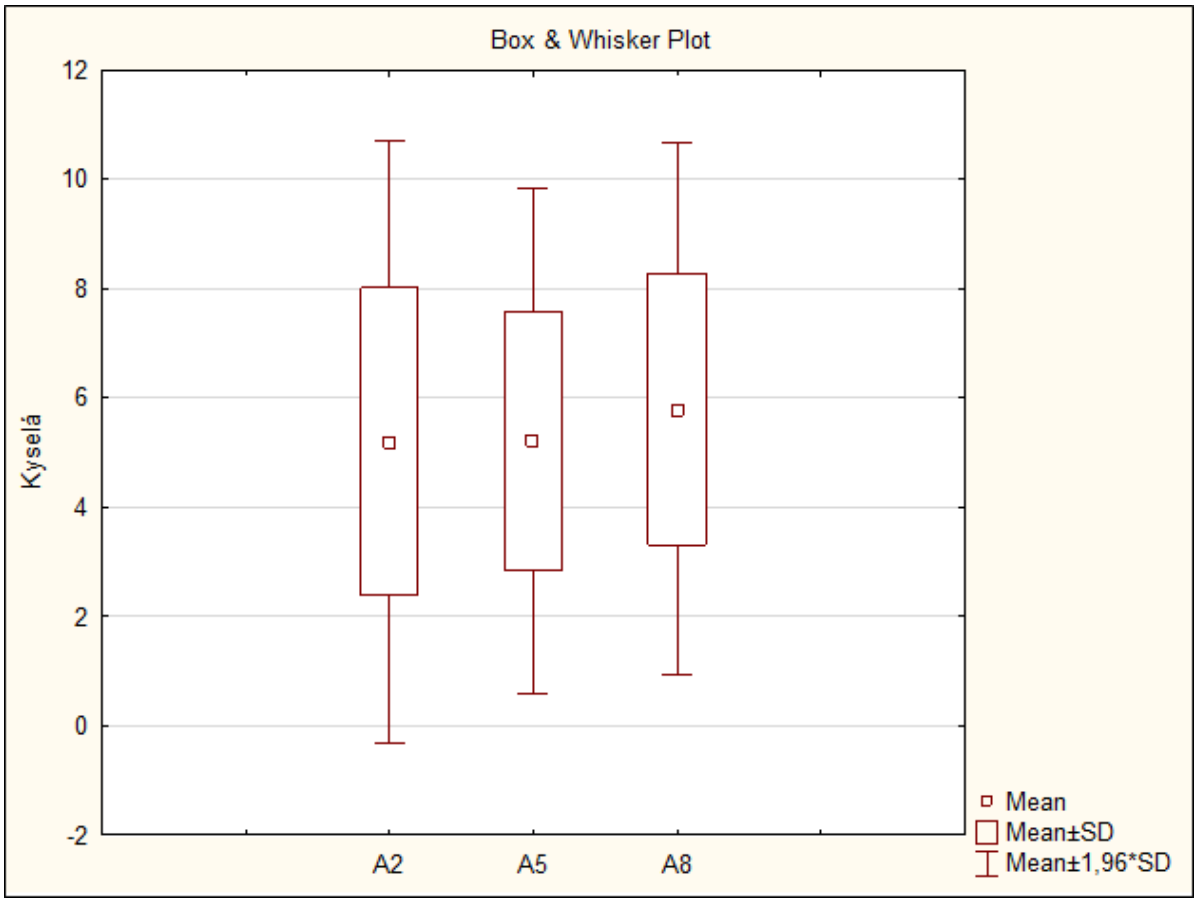
Stejně jako u vzorků s želatinou, statistické zpracování ukázalo, že vzorky se od sebe z hlediska žádného deskriptoru významně neliší. P-hodnoty pro jednotlivé deskriptory byly: kyselá ($p = 0{,}6858$; $p>\alpha$), sladká ($p = 0{,}3485$; $p>\alpha$), hořká ($p = 0{,}4752$; $p>\alpha$) a jiná ($p = 0{,}8259$; $p>\alpha$). Data pro sladkou a kyselou chuť opět vykazovala normální distribuci a výsledky jsou uvedeny jako průměrné hodnoty, data pro hořkou a jinou chuť měla nenormální distribuci, vyhodnocení je provedeno pomocí mediánu.

Grafické zpracování těchto statistických výsledků je zobrazeno v Grafech 30 až 33.

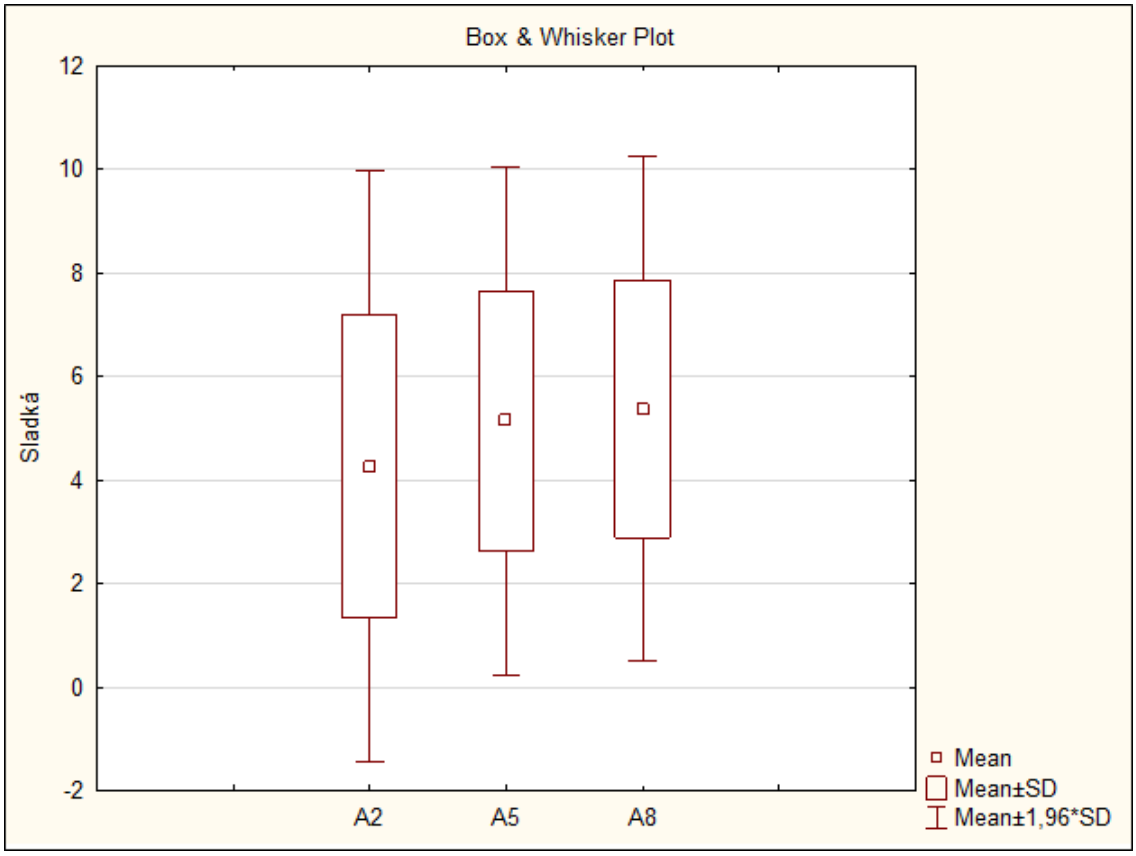
Tabulka 13: Profilový test vybraných chutí agarových želé cukrovinek s různým obsahem extraktu tužebníku

Množství extraktu	**Profilový test vybraných chutí**			
	Kyselá	**Sladká**	**Hořká**	**Jiná**
2 %	5,2 ± 2,8	4,3 ± 2,9	nd	0,8 ± 5,8
5 %	5,2 ± 2,4	5,2 ± 2,5	0,3 ± 1,3	nd
8 %	5,8 ± 2,5	5,4 ± 2,5	0,5 ± 1,5	0,1 ± 5,4

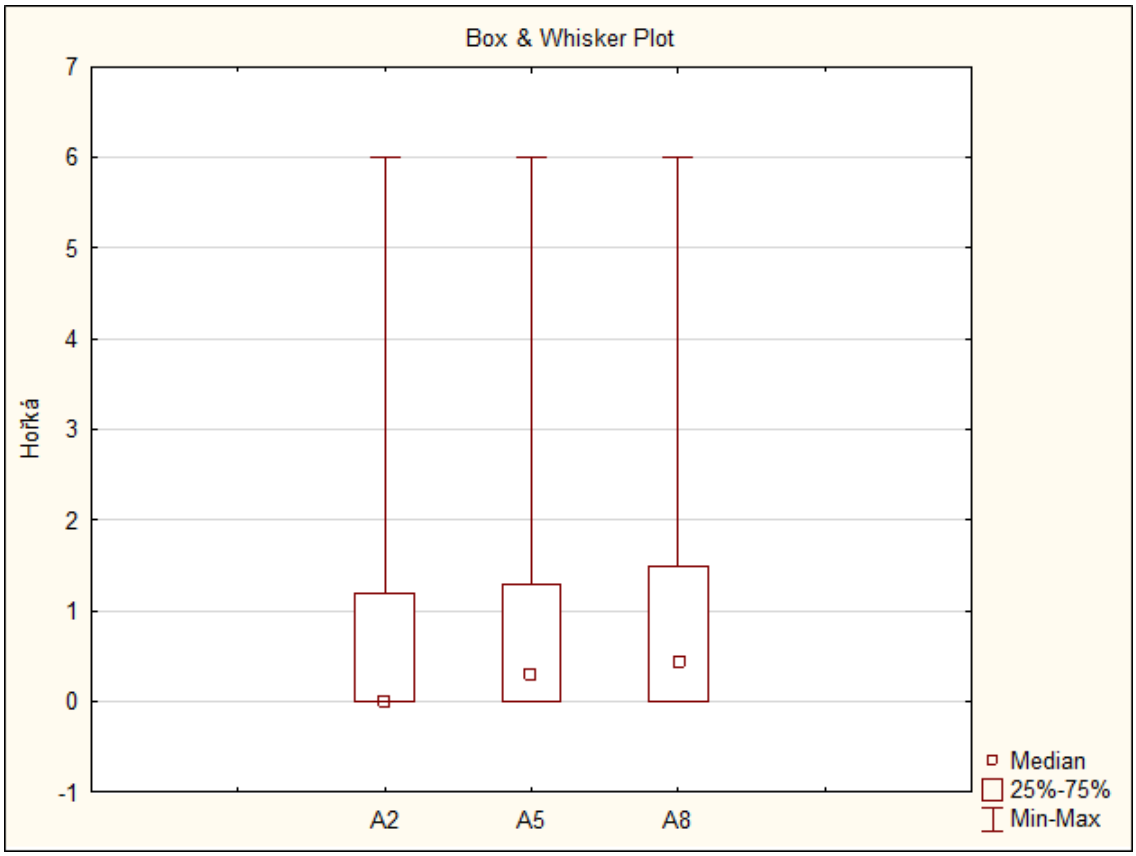
(nd – nebyla detekována)



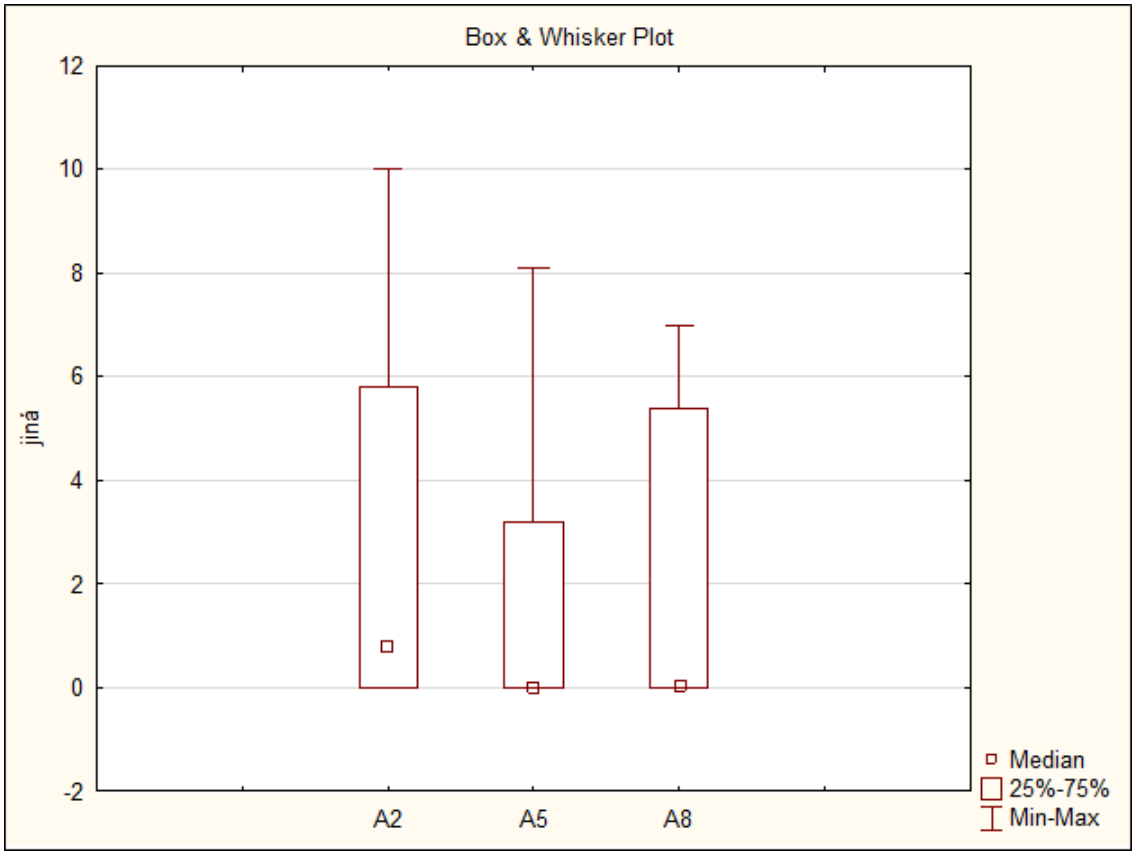
Graf 30: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání kyselé chuti



Graf 31: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání sladké chuti

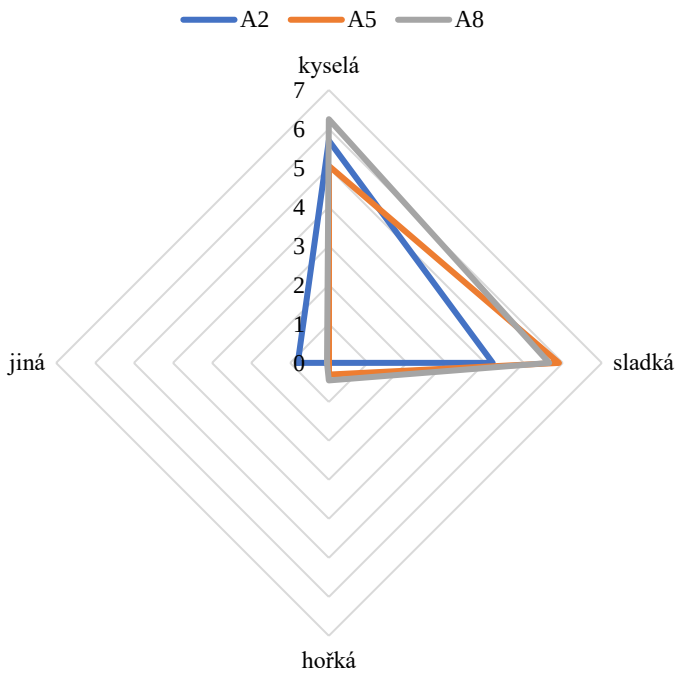


Graf 32: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání hořké chuti



Graf 33: Vliv množství přidaného extraktu tužebníku na vnímání „jiné“ chuti/pachuti

Paprskový graf (Graf 34) zobrazuje srovnání chuťových profilů všech tří agarových vzorků. Vzhledem k nenormální distribuci některých dat jsou výsledné hodnoty jednotlivých chutí uvedeny ve formě mediánu.

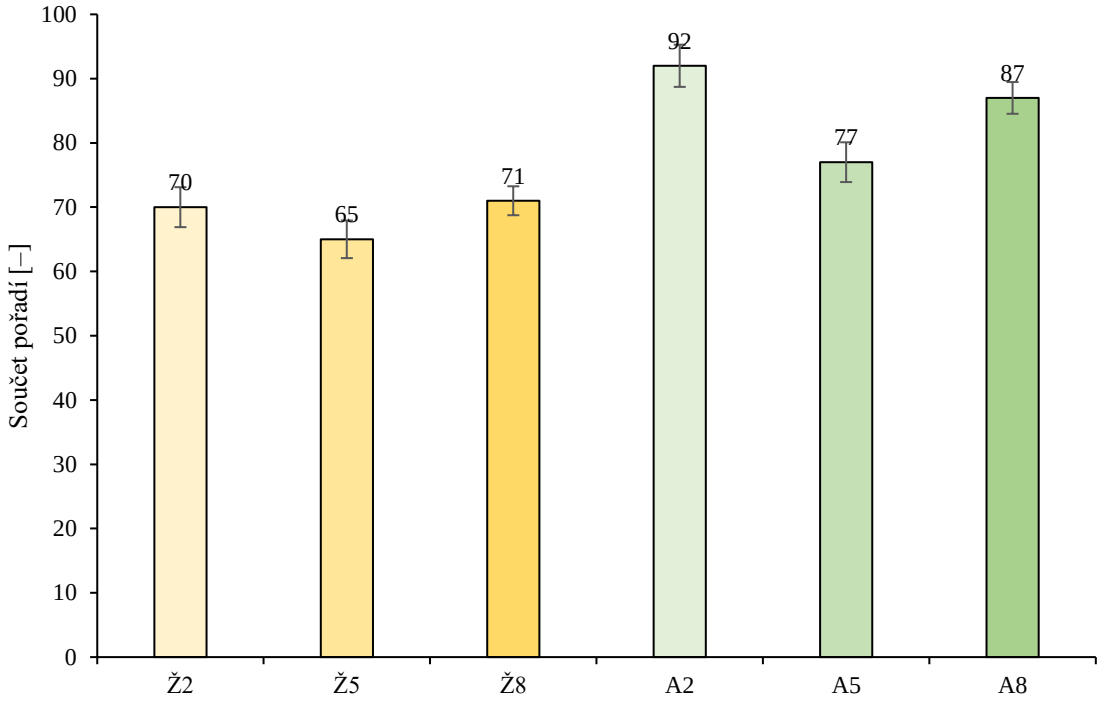


Graf 34: Paprskový graf chuťového profilu agarových želé vzorků

4.3.3 Srovnání želatinových a agarových želé cukrovinek s přídavkem extraktu z hlediska jejich senzorické kvality

Na závěr měli hodnotitelé pomocí pořadového testu vzorky seřadit dle přechozích kritérií od nejlepšího po nejméně přijatelný. Na základě výsledků pořadového testu (Graf 35), lze tvrdit, že celkově lépe (jako více spotřebitelsky přijatelné) byly hodnoceny vzorky s želatinou. Agar je chuťově výraznější než želatina, a to pravděpodobně způsobilo nižší hodnocení agarových vzorků.

Jako nejlepší z hlediska senzorické kvality byl zvolen vzorek Ž5, s přídavkem 5 % extraktu tužebníku. Další dva želatinové vzorky Ž2 a Ž8 byly hodnoceny velmi podobně, záleželo pravděpodobně na individuálních preferencích hodnotitele. Nejméně přijatelným vzorkem byl označen agarový bonbón s 2 % přidaného extraktu (A2). Ze skupiny agarového želé byl nejvíce přijatelný vzorek A5, tedy s přídavkem 5 % extraktu, což se shoduje i s „ideálním“ přídavkem extraktu u série s želatinou.



Graf 35: Pořadový test vzorků dle celkové přijatelnosti; nejlepší → nejhorší; identifikace vzorků viz Tabulka 7

4.4 Charakterizace extraktu tužebníku a želé cukrovinek

Bylinný extrakt tužebníku jilmového, přidávaný v této práci do cukrovinek, není jen zdrojem chutě, barvy či vůně, ale slouží i jako bohatý zdroj bioaktivních složek (např. polyfenoly), které jsou známy svými antioxidačními účinky. Proto byl samotný extrakt i vyrobené modelové želé bonbóny (s želatinou jako želírujícím činidlem a přídavky extraktu 2 %, 5 % a 8 %) analyzovány z hlediska obsahu fenolických sloučenin, antokyanů, antioxidačního a antimikrobiálního účinku i celkového množství aromaticky aktivních látek (AAL).

4.4.1 Identifikace těkavých látek

Pro analýzu a identifikaci těkavých látek v extraktu a vyrobených cukrovinách byla využita metoda HS-SPME-GC-MS, podmínky analýzy jsou popsány v kapitole 3.3.1. Následně byly identifikovány porovnáním jejich hmotnostních spekter s již existující databází. Detekované látky jsou zaznamenány v Tabulce 14.

U každé ze zjištěných látek je uveden průměrný retenční čas (průměr ze tří nezávislých měření (n = 3)). Naměřená relativní směrodatná odchylka (RSD) retenčních časů dosahovala hodnoty pouze okolo 0,1 % a proto není speciálně zdůrazněna. Dále je pro všechny identifikované složky uvedeno jejich procentuální zastoupení v analyzovaných vzorcích, opět jako průměr ze tří měření (n = 3) ± směrodatná odchylka.

Studie zabývající se stanovením těkavých látek v extraktech z tužebníku jsou uvedeny v kapitole 2.4.1.1. Brunke a kol. [66] identifikovali 96 sloučenin (např. limonen, linallol, menthol, menthon, α-terpineol, karvon, piperiton, geraniol, karvakrol a thymol). Z těchto látek

bylo hned několik identifikováno i v námi vyrobeném extraktu, konkrétně geraniol, karvon, α-terpineol, limonen i linalool.

Ve studii Papp a kol. [73] sledovali přítomnost těkavých a netěkavých salicylátů v extraktech *Filipendula ulmaria* pomocí různých chromatografických technik a uvádí identifikaci dvou klíčových složek: salicylaldehyd a methylsalicylát, přičemž tyto složky jsou v rostlině přítomny v různé míře, v závislosti na části rostliny a způsobu extrakce. Obě tyto klíčové složky byly identifikovány i v našem experimentu.

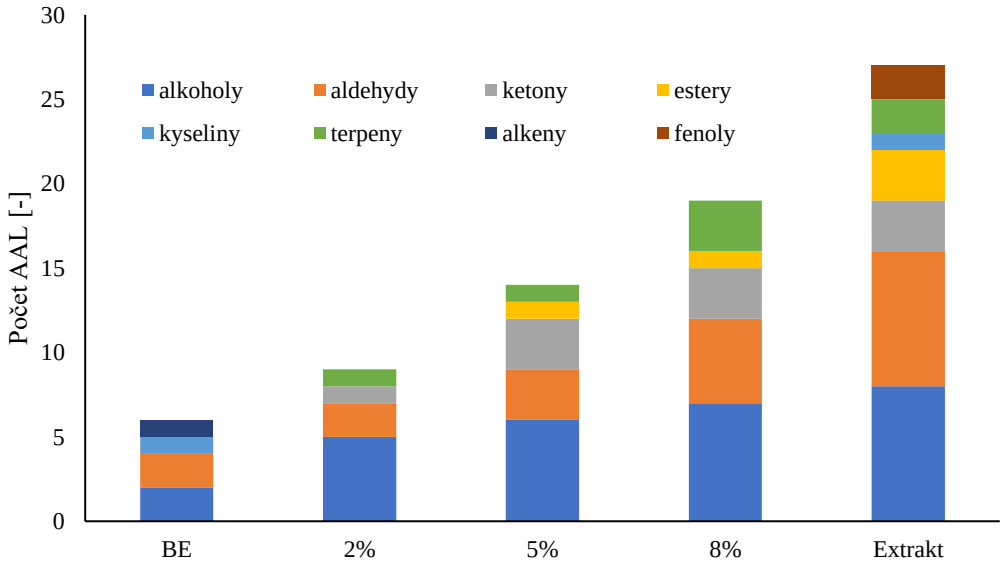
Celkově bylo v našem extraktu tužebníku a želé cukrovinkách s jeho přídavkem identifikováno 39 různých těkavých látek. Ve vzorku obsahujícím 2 % extraktu bylo identifikováno 9, ve vzorku s 5 % extraktu 14 a ve vzorku obsahujícím 8 % bylo identifikováno 19 těkavých látek. V samotném extraktu tužebníku pak bylo identifikováno celkem 27 látek.

Ze 39 identifikovaných těkavých látek bylo 12 alkoholů, 11 aldehydů, 3 estery, 4 ketony, 4 terpeny, 2 kyseliny, 2 fenoly a 1 alken. Složení těkavých látek obsažených v extraktu a ve vzorcích s jeho různým obsahem je uvedeno v Tabulce 14.

Pro srovnání byly stanoveny těkavé látky i ve vzorku želé cukrovinky, který bylinný extrakt neobsahoval. V tomto vzorku bylo stanoveno celkem pouze 6 různých látek. Z toho byly 2 aldehydy, 2 alkoholy, 1 alken a 1 kyselina. Je zajímavé, že pouze v tomto vzorku byly identifikována přítomnost alkenů. Z hlediska množství AAL byly ve vzorku nejvíce zastoupenou skupinou aldehydy (viz Graf 37).

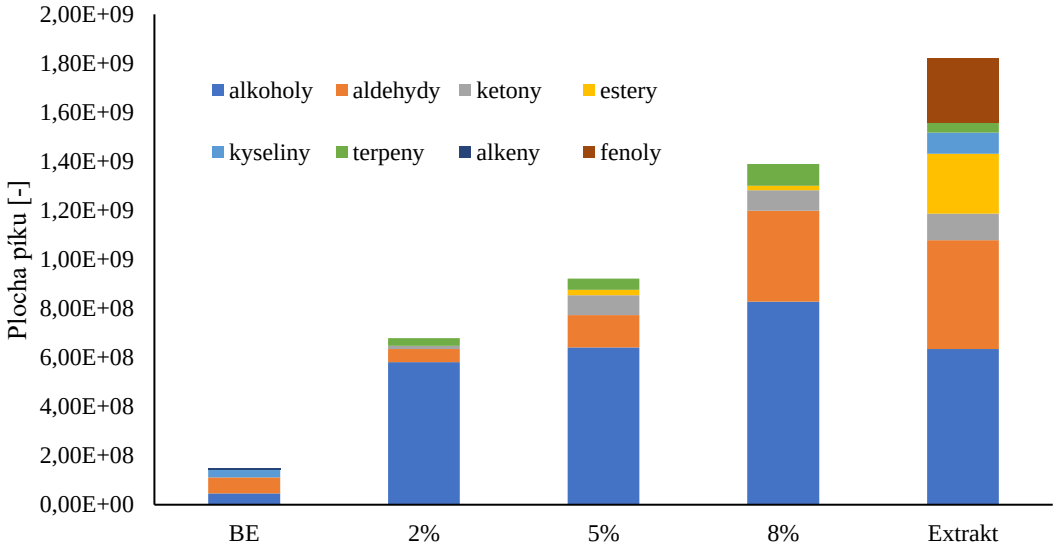
Graf 36 ukazuje srovnání počtu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích, přičemž je zřejmé i zastoupení jednotlivých skupin látek v těchto vzorcích. Z grafu je patrné, že s vyšším přídavkem extraktu se mírně zvýšil i počet identifikovaných sloučenin.

Rozdíl je nejvíce patrný mezi vzorkem obsahujícím 2 % extraktu a následujícími dvěma vzorky, tento rozdíl je dán zejména absencí esterů a nižším obsahem ketonů.



Graf 36: Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích želé cukrovinek obsahujících různé množství extraktu a samotném extraktu tužebníku; BE – bez extraktu

Graf 37 ukazuje srovnání složení identifikovaných AAL v extraktu tužebníku i ve vzorcích cukrovinek z hlediska jejich obsahu. Při tomto srovnání je patrný předpokládaný výsledek – s rostoucím obsahem extraktu ve vzorku roste celkové množství identifikovaných těkavých látek. Zde je logicky největší rozdíl mezi vzorkem, který neobsahoval žádný extrakt (BE). Ve vzorcích s jeho přídavkem se obsah látek postupně mírně zvyšuje, přičemž nejvyšší obsah ve všech vzorcích představují alkoholy a aldehydy.



Graf 37: Srovnání relativního obsahu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích želé cukrovinek obsahujících různé množství extraktu a samotném extraktu tužebníku

Tabulka 14: Identifikované těkavé látky ve vzorcích želé cukrovinek bez a s přídavkem extraktu tužebníku a samotného extraktu

Sloučenina	R_t [min]	Relativní obsah [%]					Skupina
		BE	2 %	5 %	8 %	Extrakt	
Limonen	8,23	-	-	-	4,08 ± 1,16	2,13 ± 0,05	terpen
Heptanal	8,28	-	-	-	-	2,42 ± 0,81	aldehyd
2-ethylfenol	9,01	-	-	-	-	1,04 ± 0,01	alkohol
2-methyl-1-butanol	9,05	35,30 ± 0,01	-	5,84 ± 0,24	5,73 ± 0,75	-	alkohol
sek-butanol	9,12	-	8,23 ± 0,54	6,49 ± 0,04	-	-	alkohol
2,4-nonadienal	9,27	-	-	-	-	3,45 ± 0,08	aldehyd
1-monolinolein	9,77	-	-	-	-	1,69 ± 0,05	ester
Oktanal	11,02	-	-	2,47 ± 0,24	1,72 ± 0,24	1,82 ± 0,23	aldehyd
1-octen-3-on	11,38	-	-	4,57 ± 0,46	2,57 ± 0,11	1,21 ± 0,32	keton
Nonanal	13,73	5,96 ± 3,70	-	-	2,93 ± 1,17	0,82 ± 0,04	aldehyd
cis-2,6-dimethyl-2,6-oktadien	13,96	-	-	5,29 ± 0,18	2,71 ± 0,94	0,97 ± 0,08	terpen
Ethyl kaprylát	14,71	-	-	-	-	1,02 ± 0,23	ester
2-octenal	14,73	-	5,61 ± 0,90	10,62 ± 0,08	5,09 ± 1,68	-	aldehyd
1-octen-3-ol	15,22	-	-	-	1,82 ± 0,34	-	alkohol
Furfural	15,58	5,27 ± 0,14	-	-	-	-	aldehyd
2-ethyl-1-hexanol	16,24	-	5,82 ± 0,20	-	-	-	alkohol
Linalool	17,62	9,48 ± 0,75	58,44 ± 2,17	46,80 ± 1,18	49,90 ± 0,83	5,58 ± 2,71	alkohol
2-Dodecenal	17,94	-	-	-	0,64 ± 0,06	-	aldehyd
1-acetyl-2-methylcyklopenten	18,83	-	-	2,25 ± 0,24	2,24 ± 0,10	-	keton
Drimenol	18,85	-	-	-	-	1,91 ± 0,09	alkohol

Tabulka 14: Identifikované těkavé látky ve vzorcích želé cukrovinek bez a s přídavkem extraktu tužebníku a samotného extraktu – pokračování

Sloučenina	R_t [min]	Relativní obsah [%]					Skupina
		BE	2 %	5 %	8 %	Extrakt	
Terpinen-4-ol	19,08	-	4,60 ± 0,25	3,55 ± 0,32	2,52 ± 1,28	-	terpen
12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	19,96	3,57 ± 0,19	-	-	-	-	alken
2-Decen-1-ol	19,97	-	8,97 ± 1,02	7,84 ± 0,13	5,85 ± 0,20	2,12 ± 0,62	alkohol
Salicylaldehyd	20,87	-	-	-	-	12,73 ± 1,33	aldehyd
α-Terpineol	21,31	-	4,13 ± 0,33	4,60 ± 0,21	4,93 ± 0,13	3,16 ± 0,08	alkohol
3-methylvalerová kyselina	21,41	26,82 ± 2,37	-	-	-	-	karboxylová kyselina
Isoborneol	21,46	-	-	-	1,56 ± 0,49	-	terpen
Karvon	22,30	-	-	-	-	2,55 ± 0,58	keton
2-undecenal	22,58	-	2,29 ± 0,33	2,24 ± 0,19	1,81 ± 0,11	0,92 ± 0,22	aldehyd
Ethyl citral	22,98	-	-	-	-	1,51 ± 0,36	aldehyd
Methylsalicylát	23,36	-	-	2,58 ± 0,20	1,63 ± 0,32	10,41 ± 1,96	ester
β-Damascenon	24,81	-	1,90 ± 0,02	2,59 ± 0,11	2,66 ± 0,06	1,91 ± 0,02	keton
Geraniol	25,73	-	-	-	-	3,80 ± 1,52	alkohol
Benzylalkohol	26,92	-	-	-	2,50 ± 0,23	1,01 ± 0,13	alkohol
Fenethylalkohol	28,49	-	-	-	-	14,85 ± 1,01	alkohol
Fenol	33,14	-	-	-	-	15,90 ± 2,01	fenol
p-anisaldehyd	33,70	-	-	-	-	4,57 ± 0,87	aldehyd
kyselina octová	36,78	-	-	-	-	5,80 ± 0,70	karboxylová kyselina
Eugenol	38,85	-	-	-	-	1,49 ± 0,13	fenol

R_t – průměr retenčních časů ze tří měření, BE – bez extraktu

4.4.2 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivita byla stanovena spektrofotometrickou metodou TEAC využívající činidla ABTS a metodou využívající činidlo DPPH (viz kapitola 3.3.2). výsledky jsou uvedeny v tabulkách 15 a 16. Z těchto tabulek i grafů 38 a 39 je patrné, že antioxidační aktivita vzorků mírně stoupala s vyšším přídavkem extraktu.

V případě vzorků s extraktem se antioxidační aktivita, měřená metodou s ABTS, pohybovala v rozmezí 90,26 ± 2,61 až 459,52 ± 52,60 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$. V případě vzorku bez extraktu byla antioxidační aktivita velmi nízká 9,53 ± 0,77 $\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$. U čistého extraktu byla antioxidační aktivita stanovena na 457,05 ± 31,20 $\mu g \cdot ml^{-1}$.

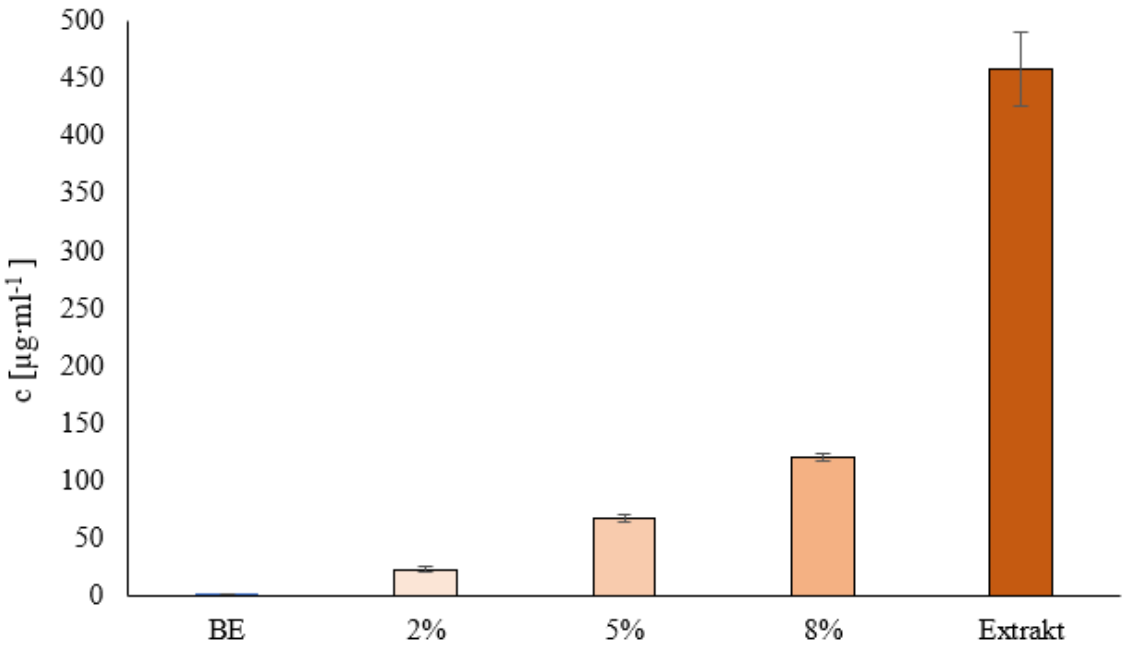
Srovnání těchto dat s literaturou není snadné, jelikož zdroje uvádějí antioxidační aktivitu extraktů, nikoliv vzorků, které obsahují jen určité množství extraktu. U samotných extraktů pak značně záleží na podmínkách, za kterých byly vyráběny. Podmínky výroby totiž mohou ovlivnit výsledky analýzy, stejně tak výsledná jednotka, ve které jsou data prezentována a nejsou tedy vždy dobře srovnatelná s daty v této práci. Pro zajímavost lze uvést studii [105], kdy byla procenta zhášení ethanolového extraktu tužebníku (při teplotě extrakce 40 °C) stanoveny na 62 %, což je hodnota srovnatelná s našimi výsledky.

Tabulka 15: Antioxidační aktivita stanovená pomocí metody TEAC s činidlem ABTS

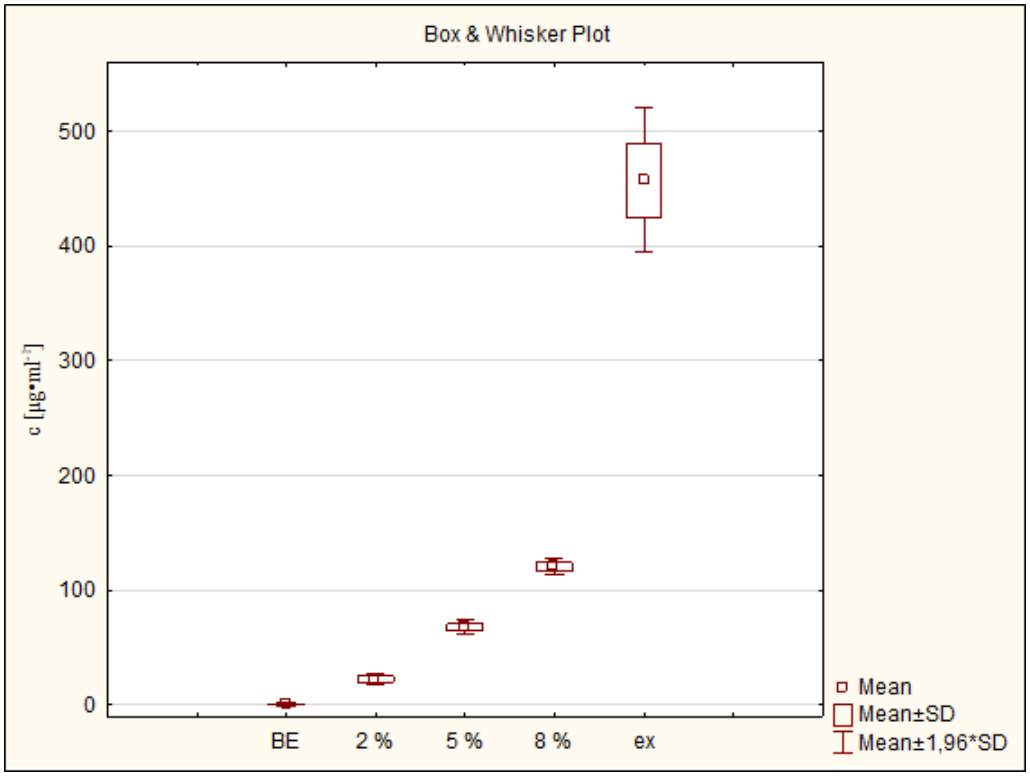
Vzorek	ø A_{734} [-]	X [%]	c [$\mu g \cdot ml^{-1}$]	c [$\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$]
Bez extraktu	0,0005	0,07	0,44 ± 0,68	1,75 ± 2,71
2 %	0,0249	3,41	22,59 ± 2,61	90,26 ± 10,42
5 %	0,0743	10,21	67,53 ± 3,31	258,76 ± 12,71
8 %	0,1325	18,21	120,47 ± 3,42	459,52 ± 13,05
extrakt	0,5028	69,08	457,05 ± 31,20	

(øA_{734} – průměrný rozdíl naměřených absorbancí; X – procenta zhášení)

Podrobnějším statistickým zpracováním bylo zjištěno, že na hladině spolehlivosti $\alpha = 0,05$ se vzorky z hlediska antioxidační aktivity statistiky významně liší ($p = 0,0091$; $p<\alpha$). Přičemž největší statisticky významný rozdíl logicky vykázaly vzorky BE (bez extraktu) a samotný extrakt ($p = 0,0102$; $p<\alpha$). Statistické zpracování lze vidět v Grafu 39.



Graf 38: Srovnání antioxidační aktivity ve vyrobených cukrovinkách a extraktu tužebníku (ABTS)



Graf 39: Statistické zpracování antioxidační aktivity (ABTS)

Data antioxidační aktivity stanovená pomocí činidla DPPH lze vidět v Tabulce 16. Opět je z dat i grafického zpracování zřejmé, že se antioxidační aktivita vzorků mírně zvyšovala s vyšším obsahem extraktu. Je zajímavé, že pomocí této metody byly stanoveny vyšší hodnoty antioxidační aktivity u všech vzorků, kromě vzorku bez přídavku extraktu, který pomocí této metody žádnou antioxidační aktivitu nevykázal.

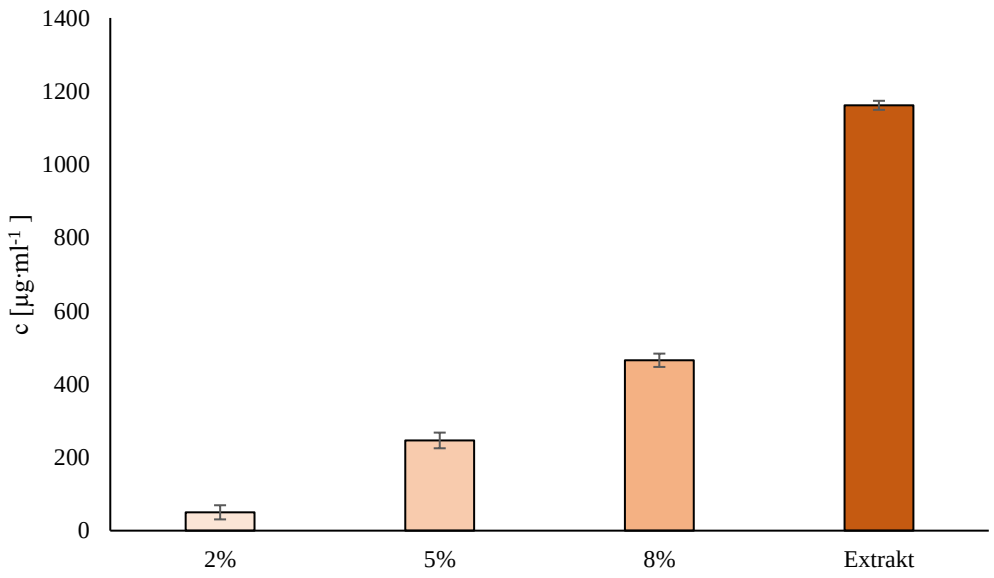
Ve studii [106] byl použit extrakt *F. ulmaria* ve 45% ethanolového roztoku, který se maceroval 14 dní. Procenta zhášení tohoto extraktu pomocí metody DPPH byla stanovena na 85–90 %. Tento výsledek ukázal, že extrakt je jako antioxidant velmi účinný.

V našem experimentu byla naměřena značně nižší hodnota – 68,58 %. Jak již bylo zmíněno výše, antioxidační aktivita je ale ovlivněna řadou faktorů, jako jsou např. původ a stáří použité rostliny, způsob výroby extraktu, podmínky používaných metod. Vzorky cukrovinek, které pak obsahují pouze určité procento extraktu, mají logicky i mnohem nižší antioxidační aktivitu.

Výsledky našeho experimentu měření antioxidační aktivity s činidlem DPPH bylo opět podrobeno statistické analýze (ANOVA), která potvrdila, že se vzorky mezi sebou statisticky významně liší ($p < 0{,}0001$; $p<\alpha$).

Tabulka 16: Antioxidační aktivita stanovená pomocí metody s činidlem DPPH

Vzorek	**ø A_{519} [-]**	**X [%]**	**c [$\mu g \cdot ml^{-1}$]**	**c [$\mu g_{TEAC} \cdot g^{-1}$]**
Bez extraktu	Nevykazoval antioxidační aktivitu			
2 %	0,055	2,95	50,03 ± 19,31	199,90 ± 75,17
5 %	0,271	14,54	246,33 ± 21,38	943,89 ± 66,90
8 %	0,512	27,47	465,24 ± 18,16	1774,64 ± 56,56
extrakt	1,278	68,56	1161,42 ± 12,34	



Graf 40: Srovnání antioxidační aktivity ve vyrobených cukrovinkách a extraktu tužebníku (DPPH)

Výsledky těchto dvou metod měření antioxidační aktivity jsou, dle očekávání, odlišné. Metoda DPPH je mnohem robustnější, u metody využívající ABTS jakákoliv, byť sebemenší odchylka v postupu nebo podmínkách měření vede k výraznějším změnám ve výsledcích měření.

4.4.3 Stanovení celkového obsahu fenolů

Celkový obsah fenolů ve vzorcích byl stanoven pomocí spektrofotometrické metody s využitím Folin-Ciocalteuova činidla (viz kapitola 2.6.2). Z Tabulky 17, která shrnuje celkový obsah fenolických látek ve všech vzorcích, je patrné, že s vyšším přídavkem extraktu se zvyšuje i obsah fenolů. Tento jev lze pozorovat i v Grafu 41.

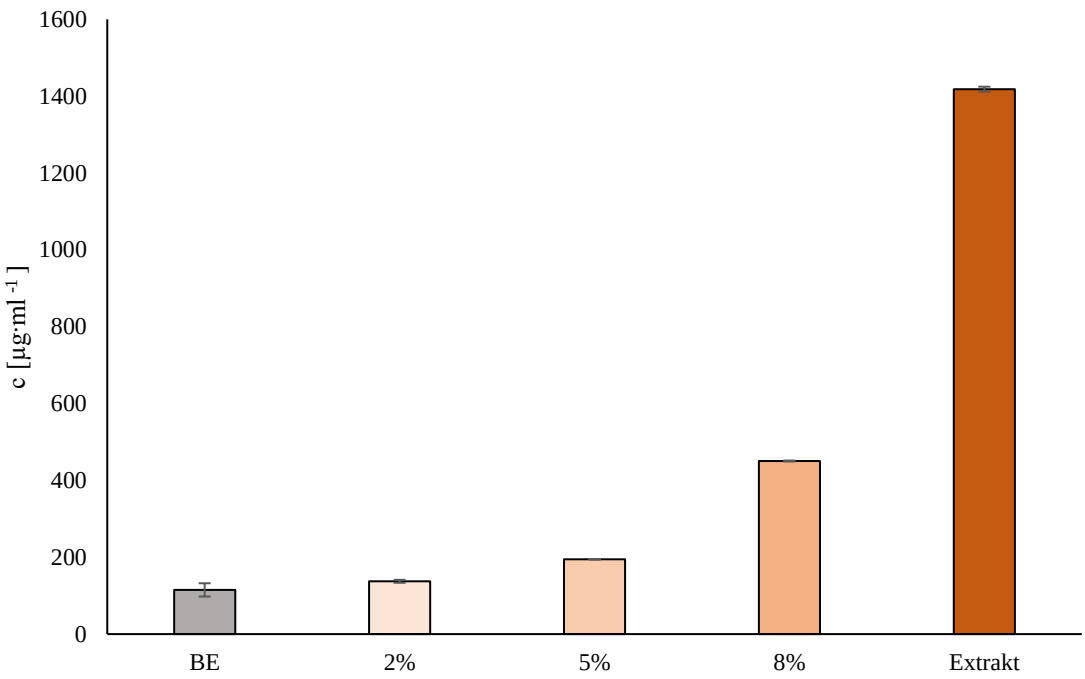
Je zajímavé, že i v samotném vzorku bez přidaného extraktu tužebníku byla zjištěna přítomnost určitého množství fenolů. Pravděpodobným důvodem může být fakt, že reagent Folin-Ciocalteau není výhradně specifický pouze pro fenolické látky, a tak může reagovat s dalšími redukujícími látkami, jako např. kyselina citronová, což může vést ke zvýšení zaznamenaného množství fenolů v analyzovaném vzorku [107].

V literatuře [75] je obsah fenolických látek extraktu tužebníku udáván v rozmezí 110 až 228 $mg_{GAE} \cdot g^{-1}$ v závislosti na podmínkách získávání extraktu. Tyto hodnoty lze díky přepočtu porovnat se vzorky vyrobených želé bonbónů, kdy se obsah fenolických látek pohyboval v rozmezí 548,99 ± 12,55 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$ pro vzorek s 2 % extraktu až k hodnotě vzorku s 8 % extraktu – 1718,22 ± 3,67 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$. Vzhledem k tomu, že vzorky obsahovaly pouze malý přídavek extraktu, je obsah fenolických látek v našich vyrobených vzorcích cukrovinek podstatně nižší. Stejně tak obsah fenolických v našem extraktu tužebníku, byl stanoven značně nižší, než uvádí literární zdroje. Pravděpodobně, jak již bylo zmíněno výše, mohly být výsledky měření ovlivněny několika faktory – způsobem přípravy extraktu, zpracování byliny nebo především podmínkami měření této metody.

Tabulka 17:Obsah fenolických látek ve vyrobených cukrovinkách a extraktu tužebníku

Vzorek	ø A_{750} [-]	c [$\mu g \cdot ml^{-1}$]	c [$\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$]
Bez extraktu	0,2876	115,04 ± 17,30	456,92 ± 7,01
2 %	0,3435	137,40 ± 3,84	548,99 ± 12,55
5 %	0,4867	194,68 ± 0,28	745,97 ± 0,88
8 %	1,1261	450,45 ± 1,18	1718,22 ± 3,67
extrakt	3,5454	1418,04 ± 6,56	

Ze statistického hlediska se mezi sebou testované vzorky na hladině spolehlivosti $\alpha = 0,05$ z hlediska obsahu fenolických látek významně liší ($p = 0,0089$; $p<\alpha$). Opět největší statisticky významný rozdíl byl stanoven mezi vzorkem bez obsahu extraktu a čistým extraktem tužebníku.



Graf 41: Srovnání obsahu fenolických látek ve vyrobených cukrovinkách a extraktu tužebníku

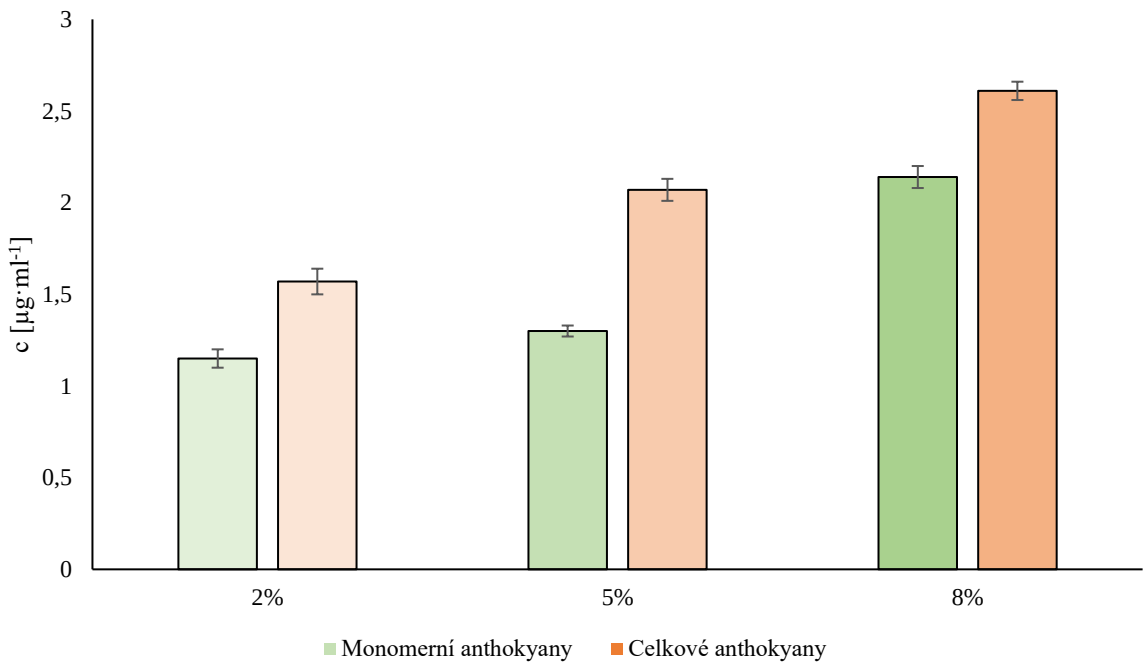
4.4.4 Stanovení antokyanů

Celkový obsah antokyanů byl stanoven pH diferenciální metodou dle postupu uvedeného v kapitole 3.3.4. Výsledky této analýzy jsou uvedeny v Tabulce 18.

Graf 42 pak zobrazuje obsah monomerních a celkových antokyanů ve vzorcích s přídavkem extraktu tužebníku.

Tabulka 18: Obsah antokyanů ve vyrobených cukrovinkách s přídavkem extraktu

Vzorek	Monomerní anthokyany [µg·ml^{-1}]	Celkové anthokyany [µg·ml^{-1}]
2 %	1,15 ± 0,05	1,57 ± 0,07
5 %	1,30 ± 0,03	2,07 ± 0,06
8 %	2,14 ± 0,06	2,61 ± 0,05
extrakt	156,64 ± 10,42	249,19 ± 27,40



Graf 42: Srovnání obsahu antokyanů ve vyrobených cukrovinkách s přídavkem extraktu

Z Grafu 42 je patrné, že s vyšším obsahem se mírně zvýšil o obsah antokyanů, avšak celkově byly rozdíly téměř zanedbatelné. Jelikož vyrobené želé bonbóny po rozpuštění téměř bezbarvé, bylo očekáváno, že obsah antokyanů bude minimální nebo téměř žádný.

V samotném extraktu tužebníku byl již obsah antokyanů podstatně vyšší než ve vzorcích s jeho obsahem. Monomerní antokyany dosáhly hodnoty 156,64 ± 10,42 $\mu g \cdot ml^{-1}$, celkový obsah byl pak stanoven na 249,19 ± 27,40 $\mu g \cdot ml^{-1}$.

Ani tyto hodnoty nejsou příliš vysoké, v porovnání např. s bobulovitým ovocem jako brusinky, které mají celkový obsah antokyanů v rozmezí 25 až 100 mg na 100 g plodu nebo borůvky, kde se obsah pohybuje od 85–270 mg na 100 g [108].

Nicméně na základě studie [75] vysoký obsah antokyanů v extraktu tužebníku nebyl neočekáván, jelikož žádná z částí této byliny není známá vysokým obsahem těchto látek. Barvy bohaté na antokyany bývají červené, fialové až modré. Náš extrakt měl tmavě jantarový odstín.

4.4.5 Stanovení antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální aktivita byla testována proti dvěma výše zmíněným mikroorganismům (*Bacillus cereus* a *Escherichia coli)*. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 19, kde jsou uvedeny rozměry inhibiční zóny v centimetrech.

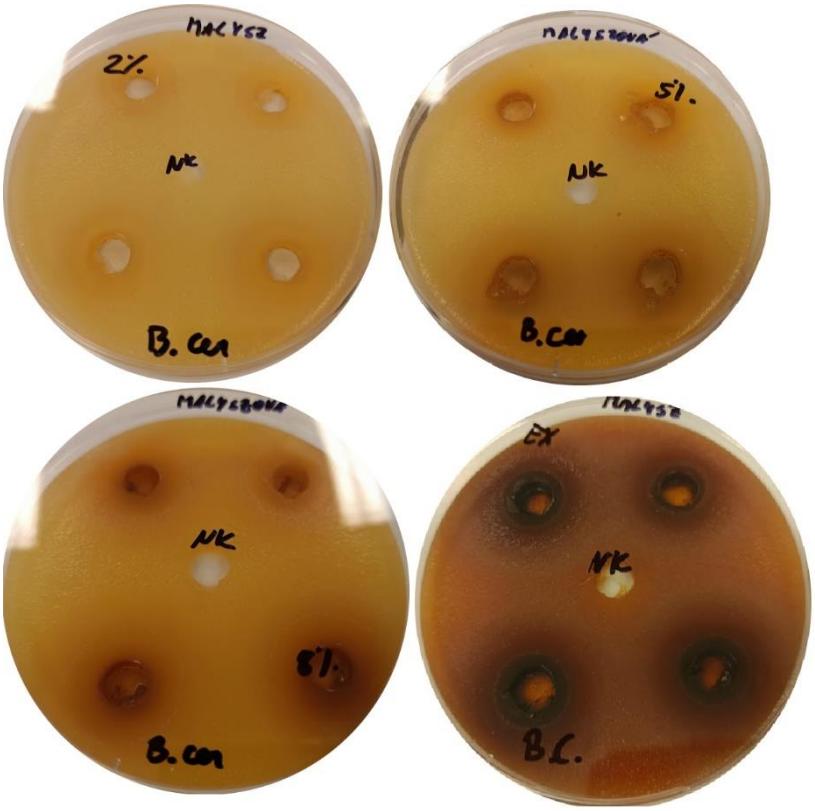
Z Tabulky 19 je patrné, že extrakt a vzorky vykazovaly dobrou antimikrobiální aktivitu vůči bakterii *Bacillus cereus* (viz Obrázek 9). Antimikrobiální aktivita testovaných látek vůči *E. coli* (Obrázek 10) již byla méně účinná, přesto se daly určit slabé inhibiční zóny kolem jamek. Navíc z důvodu podobného zbarvení kultivačního média a kolonií na něm rostoucích, nejsou inhibiční zóny na Obrázku 10 dobře znatelné.

V prostřední jamce se na obrázcích 9 a 10 vždy nachází negativní kontrola (40% ethanol), testovaná látka se nachází ve 4 ostatních krajních jamkách okolo.

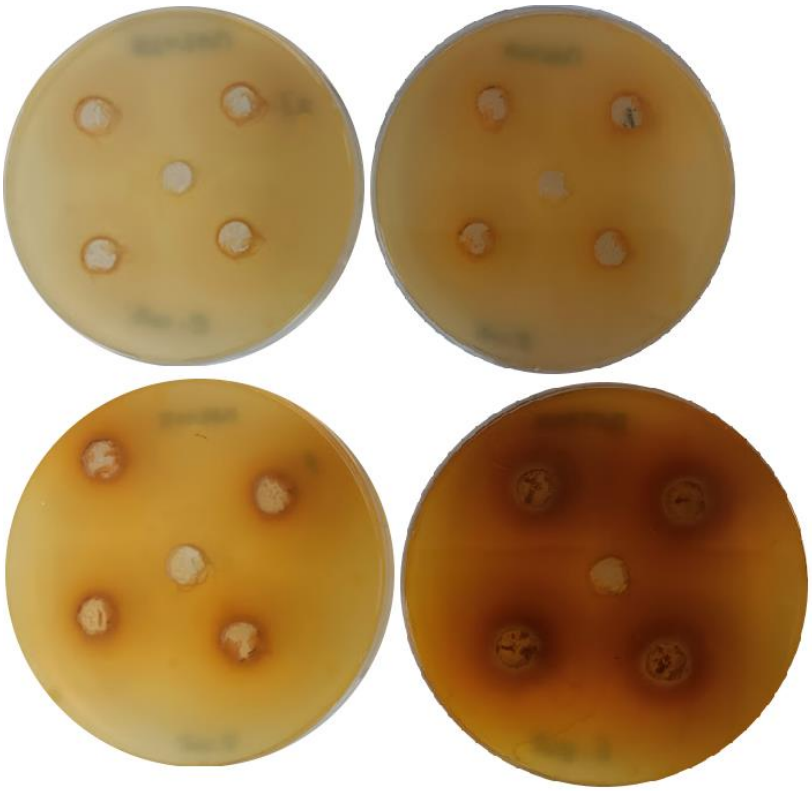
Rozdíly v odolnosti bakterií *B. cereus* a *E. coli* mohou být částečně vysvětleny jejich odlišnou buněčnou stěnou. B. cereus, jako grampozitivní bakterie, nemá vnější membránu, což ji činí více náchylnou k antimikrobiální inhibici. Naopak gramnegativní bakterie *E. coli* má kromě tenké peptidoglykanové vrstvy také vnější membránu s vyšším obsahem lipidů a lipoproteinů, což může její odolnost proti antimikrobiálním látkám zvyšovat.

Tabulka 19: Výsledky ověření antimikrobiální aktivity extraktu tužebníku a vzorků s jeho obsahem

Mikroorganismus	Vzorek	Inhibiční zóna [mm]				ø Inhibiční zóna [mm]
B. cereus	2 %	20	19	19	20	19,5 ± 0,05
	5 %	21	2	2	21	20,5 ± 0,05
	8 %	24	23	23	24	23,5 ± 0,05
	Extrakt	23	25	23	24	23,8 ± 0,08
E. coli	2 %	13	12	12	12	12,3 ± 0,04
	5 %	13	12	13	12	12,5 ± 0,05
	8 %	14	13	13	13	13,3 ± 0,04
	Extrakt	15	14	15	15	14,8 ± 0,04



Obrázek 9: Antimikrobiální aktivita vůči B. cereus (vlevo nahoře – vzorek s 2 % extraktu; vpravo nahoře – vzorek s 5 % extraktu; vlevo dole – vzorek s 8 % extraktu, vpravo dole – extrakt tužebníku)



Obrázek 10: Antimikrobiální aktivita vůči E. coli (vlevo nahoře – vzorek s 2 % extraktu; vpravo nahoře – vzorek s 5 % extraktu; vlevo dole – vzorek s 8 % extraktu, vpravo dole – extrakt tužebníku)

V literatuře lze nalézt značné rozdíly ve výsledcích antimikrobiální účinnosti tohoto extraktu. Ve studii Sokolov a kol. [109] byla potvrzena antimikrobiální aktivita tužebníku vůči grampozitivním bakteriím, konkrétně vůči *B. cereus* a *S. aureus*. Vodný extrakt tužebníku v této studii prokázal antimikrobiální účinnost až do čtyřnásobného ředění.

Publikace Opalko a kol. [110] uvádí, že vůči gramnegativní *E. coli* extrakt z tužebníku nemá antimikrobiální aktivitu, avšak vůči gramnegativní *H. pylori* vykázal poměrně velkou aktivitu, inhibiční zóna měla 9,3 mm [111].

Studie [112] potvrdila účinnost vůči *E. coli*, avšak v závislosti na přípravě extraktu, a především na přítomnosti nízkého pH. Naopak z článku [113] vyplývá, že proteinové extrakty z *Filipendula ulmaria* nevykázaly žádnou inhibiční aktivitu proti *E. coli* ani *B. cereus*.

5 ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce byly prozkoumány možnosti použití alternativních sladidel a aplikace extraktu tužebníku v rámci výroby želé cukrovinek. Výsledky experimentální části ukázaly, že alternativní sladidla, jako stévie, xylitol a maltitol, mohou efektivně nahradit tradiční sladidla, čímž se snižuje energetický obsah výrobků, aniž by byla ohrožena jejich senzorická přijatelnost. Vzorek s 50% hm. roztoku maltitolu byl hodnocen dle celkové přijatelnosti dokonce lépe, než standardní vzorek vyrobený s 50% hm. roztoku cukru.

Bylina využitá na přípravu extraktu, *Filipendula ulmaria* neboli tužebník jilmový, je známá pro svůj vysoký obsah bioaktivních složek. Zároveň je extrakt z této rostliny nositelem senzoricky aktivních látek, které mohou zlepšit senzorický profil vyrobených želé z hlediska chuti, barvy i vůně. Extrakt byl připraven macerací v 40% ethanolovém roztoku a následně odpařen na vakuové odparce (přestože se tímto krokem může zvýšit riziko ztráty některých bioaktivních látek) až do požadované konzistence – výrazně viskózní kapaliny. Extrakt dodával vyrobeným vzorkům ovocnou, lehce nakyslou chuť. Je zajímavé, že bonbóny obsahující želatinu vykazovaly méně intenzivní zabarvení, s odstíny od světle zlatavé po příjemné tóny oranžovo-hnědé. Na druhé straně vzorky, kde byl jako želírující látka použit agar, projevily výraznější barevnost sahající od světle medové až k odstínům tmavě jantarové.

Aplikace extraktu tužebníku navíc přinesla nejen zlepšení organoleptických vlastností, ale také potenciální zdravotní benefity, které jsou spojeny s jeho bioaktivními látkami, např. protizánětlivé účinky, zmírnění bolesti, podporu trávení či ochranu organismu před poškozením volnými radikály.

Nejlépe byl dle celkové přijatelnosti hodnocen vzorek s želatinou jako želírující látkou a 5 % extraktu, což naznačuje, že při správném dávkování může být extrakt úspěšně využit bez negativních dopadů na chuťový profil želé. Naopak, senzorickou kvalitu těchto výrobků dokáže jeho přídavek ještě vylepšit, což otevírá další potenciální možnosti jeho využití v potravinářském průmyslu.

Následně byly všechny vzorky podrobeny řadě analýz pro stanovení obsahu těkavých (aromatických) látek, fenolických látek, anthokyanů a antioxidační i antimikrobiální aktivity.

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS, která je pro analýzu těkavých složek v potravinových vzorcích často využívána. Bylo zjištěno, že s rostoucím množstvím extraktu ve vzorcích narůstá jak počet, tak i celkový obsah těkavých látek.

Nejčastěji se ve vzorcích s extraktem tužebníku vyskytovaly alkoholy, následované aldehydy. V případě vzorku s 8 % extraktu tyto skupiny zastupovaly téměř 85 % ze všech stanovených látek, celkem jich bylo v tomto vzorku stanoveno 19. V samotném extraktu pak bylo identifikováno 27 látek, kde kromě alkoholů (36,6 %) a aldehydů (31,2 %) tvořily další výraznější zastoupení estery (17,1 %).

Při stanovení celkového množství fenolů ve vzorcích a měření jejich antioxidační aktivity bylo potvrzeno, že se s vyšším obsahem extraktu ve vzorku se zvyšuje obsah fenolických látek i jeho antioxidační schopnosti. Ve vzorcích se obsah fenolických látek pohyboval v rozmezí

456,92 ± 7,01 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$ až 1718,22 ± 3,67 $\mu g_{GAE} \cdot g^{-1}$. Samotný extrakt pak obsahoval 1418,1600 $\mu g \cdot ml^{-1}$ fenolických látek. Obsah anthokyanů se pohyboval v minimálních hodnotách, to však vzhledem k barvě našeho extraktu (hnědo-oranžová), bylo předpokládáno, jelikož barvy bohaté na anthokyany jsou v odstínech od červené přes fialové až modré. Co se týče antioxidační aktivity, procenta zhášení rostla od 3,41 % (vzorek obsahující 2 % extraktu) až po 69,08 % (samotný extrakt).

Vzorky také vykazovaly antimikrobiální aktivitu vůči testovaným bakteriím *Bacillus cereus* a *Escherichia coli*, přičemž účinnější efekt prokázaly vůči *Bacillus cereus*, pravděpodobně z důvodu jednodušší struktury buněčné stěny tohoto mikroorganismu.

Výsledky této práce potvrzují, že tužebník jilmový je bohatým zdrojem bioaktivních látek a vykazuje jak antioxidační, tak antimikrobiální aktivitu. Tyto vlastnosti předurčují tužebník k využití v potravinářském průmyslu jako cenného přírodního zdroje látek obohacujících nutriční (zvýšení obsahu fenolických sloučenin a antioxidační aktivita) a senzorickou kvalitu pochutin (atraktivní barva, příjemně vyvážená sladko-kyselá, jemně bylinná chuť). Navíc, vzhledem k použití maltitolu místo sacharosy, obsahuje výrobek méně energie a je tak vhodný i pro ty, kteří sledují svůj denní energetický příjem nebo mají zájem o zdravější alternativy tradičních sladkostí. Maltitol má nižší glykemický index, což ho činí vhodným i pro diabetiky, i když je třeba dbát na to, aby se konzumoval v mírném množství kvůli možným gastrointestinálních potíží, jako jsou plynatost nebo průjem.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

[1] Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. In: Sbírka zákonů. 2003. Dostupné z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76

[2] ČOPÍKOVÁ, Jana. Technologie čokolády a cukrovinek. Praha: VŠCHT, 1999. ISBN 8070803657.

[3] GUNES, Recep, Ibrahim PALABIYIK, Nevzat KONAR a Omer SAID TOKER. Soft confectionery products: Quality parameters, interactions with processing and ingredients. *Food Chemistry* [online]. 2022, 385 [cit. 2022-10-29]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.132735

[4] VON MOLITOR, Elena, Katja RIEDEL, Michael KROHN, Mathias HAFNER, Rüdiger RUDOLF a Tiziana CESETTI. Sweet Taste Is Comple-: Signaling Cascades and Circuits Involved in Sweet Sensation. *Frontiers in Human Neuroscience* [online]. 2021, 15(14), 910-913 [cit. 2022-10-29]. ISSN 1662-5161. Dostupné z: doi:10.3389/fnhum.2021.667709

[5] DINICOLANTONIO, James J, James H O'KEEFE, William L WILSON, Mathias HAFNER, Rüdiger RUDOLF a Tiziana CESETTI. Sugar addiction: is it real? A narrative review. *British Journal of Sports Medicine* [online]. 2018, 52(14), 910-913 [cit. 2022-10-29]. ISSN 0306-3674. Dostupné z: doi:10.1136/bjsports-2017-097971

[6] VON RYMON LIPINSKI, Gert-Wolfhard a BECK, Jimikaye. Sweeteners. Online. *Biotechnology of Food and Feed Additives*. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. 2014, roč. 164, s. 1-28. ISBN 978-3-662-43760-5. ISSN 00319384. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/10_2013_222. [cit. 2024-01-02].

[7] PETERS, John C. a BECK, Jimikaye. Low Calorie Sweetener (LCS) use and energy balance. Online. 2016, roč. 164, s. 524-528. ISSN 00319384. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.03.024. [cit. 2024-01-02].

[8] CHÉRON, Jean-Baptiste, A-el MARCHAL, Sébastien FIORUCCI, Mathias HAFNER, Rüdiger RUDOLF a Tiziana CESETTI. Natural Sweeteners: is it real? A narrative review. *Encyclopedia of Food Chemistry* [online]. Elsevier, 2019, 2019, 52(14), 189-195 [cit. 2022-10-29]. ISBN 9780128140451. ISSN 0306-3674. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.21620-x

[9] MARCUS, Jacqueline B., A-el MARCHAL, Sébastien FIORUCCI, Mathias HAFNER, Rüdiger RUDOLF a Tiziana CESETTI. Carbohydrate Basics: Sugars, Starches and Fibers in Foods and Health. *Culinary Nutrition* [online]. Elsevier, 2013, 2013, 52(14), 149-187 [cit. 2022-10-29]. ISBN 9780123918826. ISSN 0306-3674. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-391882-6.00004-2

[10] MELLADO-MOJICA, Erika a Mercedes G. LÓPEZ. Identification, classification, and discrimination of agave syrups from natural sweeteners by infrared spectroscopy and HPAEC-

PAD. *Food Chemistry* [online]. 2015, 167, 349-357 [cit. 2022-10-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.111

[11] AL-HOOTI, Suad N, Jiwan S SIDHU, Jameela M AL-SAQER a Amani AL-OTHMAN. Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. *Food Chemistry* [online]. 2002, 79(2), 215-220 [cit. 2022-10-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(02)00134-6

[12] MORSELLI, Mariafranca; WHALEN, M Lynn (1996). "Appendi- 2: Maple Chemistry and Quality". In Koelling, Melvin R; Heiligmann, Randall B (eds.). *North American Maple Syrup Producers Manua*. Bulletin. Vol. 856. Ohio State University

[13] CASTRO-MUÑOZ, Roberto, Mariela CORREA-DELGADO, Rafael CÓRDOVA-ALMEIDA, et al. Natural sweeteners: Sources, extraction and current uses in foods and food industries. *Food Chemistry* [online]. 2022, 370(2), 215-220 [cit. 2022-10-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.130991

[14] VON RYMON LIPINSKI, Gert-Wolfhard a BECK, Jimikaye. Sweeteners. Online. *Biotechnology of Food and Feed Additives*. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. 2014, roč. 164, s. 1-28. ISBN 978-3-662-43760-5. ISSN 00319384. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/10_2013_222. [cit. 2024-01-02].

[15] SUCHITA, Aminha; SOUMYA, A.N.; RAJU, V. Govinda; GOUD, B. Manish; IRFATH, Mohammad et al. ISOLATION AND EXTRACTION OF ARTIFICIAL SWEETNER (STEVIA). *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2014, roč. 3, č. 8, s. 481-486. ISSN 2277 – 7105.

[16] BRUSICK, J. David, A critical review of the genetic to-icity of steviol and steviol glycosides. Online. *Food and Chemical To-icology*. 2008, roč. 46, č. 7, s. S83-S91. ISSN 02786915. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.05.002. [cit. 2024-01-02].

[17] CURRY, Leslie L., Ashley ROBERTS, Rafael CÓRDOVA-ALMEIDA, et al. Subchronic to-icity of rebaudioside A: Sources, extraction and current uses in foods and food industries. *Food and Chemical To-icology* [online]. 2008, 46(7), S11-S20 [cit. 2023-10-30]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2008.04.042

[18] GUPTA, Megha. Sugar Substitutes: Mechanism, Availability, Current Use and Safety Concerns-An Update. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences [online]. 2018, 6(10), 1888-1894 [cit. 2024-01-15]. ISSN 1857-9655. Dostupné z: doi:10.3889/oamjms.2018.336

[19] SHANKAR, Padmini, Suman AHUJA a Krishnan SRIRAM. Non-nutritive sweeteners: Review and update. Nutrition [online]. 2013, 29(10-11), 1293-1299 [cit. 2024-01-16]. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/

[20] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. In: Úřední věstník Evropské unie. Evropská unie, 2008, ročník 2008, číslo 1333. Dostupné také z: https://eurle-.europa.eu/legal-content/CS/T-T/?uri=CELE-%3A02008R1333-20210808

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

[22] Seznam Éček [online] 2018 [cit. 2024-01-16]. Dostupné z: http://www.ferpotravina.cz/seznam-ecek

[23] BHATTACHARYA, Suvendu a DAS, Arpita. Sugars, sweeteners, chocolates, and sweet snacks. Online. *Snack Foods*. 2023, s. 211-249. ISBN 9780128197592. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819759-2.00003-3. [cit. 2024-01-18].

[24] CHAKRABORTY, Runu a DAS, Arpita. Artificial Sweeteners. Online. *Encyclopedia of Food Chemistry*. 2019, s. 30-34. ISBN 9780128140451. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21619-3. [cit. 2024-01-18].

[25] ANTTONEN, Anttonen a LARMAS, Markku. Children Were Guaranteed Regular Check Ups in Dental Study. Online. *BMJ: British Medical Journal*. 1999, roč. 319, č. 7222, s. 1432-1432. Dostupné z: http://www.jstor.org/stable/25186479. [cit. 2024-01-19].

[26] GASMI BENAHMED, Asma; GASMI, Amin; ARSHAD, Maria; SHANAIDA, Mariia; LYSIUK, Roman et al. Health benefits of -ylitol: A Rational Strain Engineering Approach toward a Multiproduct Biorefinery. Online. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020, roč. 104, č. 17, s. 7225-7237. ISSN 0175-7598. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s00253-020-10708-7. [cit. 2024-01-19].

[27] DASGUPTA, Diptarka; JUNGHARE, Vivek; NAUTIYAL, Abhilek K.; JANA, Arijit; HAZRA, Saugata et al. -ylitol Production from Lignocellulosic Pentosans: A Rational Strain Engineering Approach toward a Multiproduct Biorefinery. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019, roč. 67, č. 4, s. 1173-1186. ISSN 0021-8561. Dostupné z: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05509. [cit. 2024-01-19].

[28] GASMI BENAHMED, Asma; GASMI, Amin; ARSHAD, Maria; SHANAIDA, Mariia; LYSIUK, Roman et al. Maltitol: A Rational Strain Engineering Approach toward a Multiproduct Biorefinery. Online. *Alternative Sweeteners*. 2016, roč. 104, č. 17, s. 316-331. ISBN 9780429109089. ISSN 0175-7598. Dostupné z: https://doi.org/10.1201/b11242-21. [cit. 2024-01-19].

[29] POLLMER, U., C. HOICKE a H. U. GRIMM. Víš, co jíš?: Co se skrývá v potravinách. Le-ikon potravinových doplňků. Olomouc: Fontána, 2009. 272s. ISBN 978-80-7336- 092-4.

[30] VRBOVÁ, Tereza. Víme, co jíme? aneb: průvodce „ Éčky" v potravinách. Praha: EcoHouse, 2001. 268 s. ISBN 80-238-7504-3.

[31] SPILLANE, W. J. Optimising Sweet Taste in Foods [online]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2006. 428 s. ISBN 1-84569-164-4. Dostupné z: http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_E-T_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1476

[32] CANIMOGLU, Semir a RENCUZOGULLARI, Eyyup. The genoto-ic and teratogenic effects of maltitol in rats. Online. *To-icology and Industrial Health*. 2013, roč. 29, č. 10, s.

935-943. ISSN 0748-2337. Dostupné z: https://doi.org/10.1177/0748233712446727. [cit. 2024-01-23].

[33] NABORS, Lyn O'Brien. *Alternative sweeteners*. 3rd ed., rev. and e-panded. New York: M. Dekker, c2001. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 112. ISBN 0- 8247-0437-1.

[34] Informační Centrum Bezpečnosti Potravin: Náhradní sladidla [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství [cit. 2024-1-23]. Dostupné z: https://www.bezpecnostpotravin.cz/

[35] ČERNÝ, Miloslav, Tomáš TRNKA, Miloš BUDĚŠÍNSKÝ a Alan D. MCNAUGHT. *Sacharidy*. 2. vydání. Praha: Česká společnost chemická, 2016. Chemické listy. ISBN 978-808-6238-920.

[36] JIA, Ruoyu; CUI, Congli; GAO, Lin; QIN, Yang; JI, Na et al. A review of starch swelling behavior: Its mechanism, determination methods, influencing factors, and influence on food quality. Online. *Carbohydrate Polymers*. 2023, roč. 321. ISSN 01448617. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121260. [cit. 2024-01-24].

[37] TREMLOVÁ, Bohuslava, Martina OŠŤÁDALOVÁ a Alexandra TAUFEROVÁ. *Hygiena a technologie potravin rostlinného původu. Hygiena a technologie cukru, cukrovinek, čaje a kávy. Návody do cvičení*. Brno, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012. s. 53, ISBN 978-80-7305-636-0.

[38] PHILLIPS, Glynn O., a Peter A. WILLIAMS. Carrageenan and furcellaran. *Handbook of Hydrocolloids*. 2nd Edition. Elsevier, 2009, s. 164-185. ISBN 9781845695873.

[39] BURDOCK, George A., c1997. Encyclopedia of food and color additives. Boca Raton: CRC. ISBN 08-493-9416-3

[40] ČOPÍKOVÁ, Jana, Jitka MORAVCOVÁ, Oldřich LAPČÍK, Pavel DRAŠAR, Michal UHER. Přírodní barevné látky. Chemické Listy [online]. 99, 802–816, [cit. 2024-01-25]. http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_11_802-816.pdf

[41] BABIČKA, Luboš. Přídatné látky v potravinách: publikace České technologické platformy pro potraviny. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2012. ISBN 978-80-905096-3-4.

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

[43] SUKEAW SAMAKRADHAMRONGTHAI, Rajnibhas a Tarudee JANNU. *Effect of stevia, -ylitol, and corn syrup in the development of velvet tamarind* (Dialium indum L.) chewy candy. Food Chemistry [online]. 2021, 352 [cit. 2024-01-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.129353.

[44] PICCONE, Pierpaolo; RASTELLI, Simon L. a PITTIA, Paola. Aroma release and sensory perception of fruit candies model systems. Online. *Procedia Food Science*. 2011, roč. 1, s. 1509-1515. ISSN 2211601-. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.223. [cit. 2024-01-30].

[45] ZHOU, Xingyu; YU, Jinghu; QIAN, Shanhua; CHEN, Yuyao; HAO, Jinghong et al. Study on aroma release of chocolate jelly based on bionic chewing. Online. *Journal of Food Engineering*. 2023, roč. 353, s. 1509-1515. ISSN 02608774. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111552. [cit. 2024-01-30].

[46] QI, Dandan; MA, Chengying; WANG, Wenwen; ZHANG, Licui; HAO, Jinghong et al. Gas chromatographyxmass spectrometry analysis reveals the differences in volatile components of royal jelly from different honeybee stocks. Online. *LWT*. 2020, roč. 124, s. 1509-1515. ISSN 00236438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109143. [cit. 2024-01-30].

[47] LABAU, Elizabeth, 2012. The Sweet Book of Candy Making: From the Simple to the Spectacular-How to Make Caramels, Fudge, Hard Candy, Fondant, Toffee, and More!. Beverly, MA: Quarry books, 160 s. ISBN 978-1-59253-810-2.

[48] KONAR, Nevzat, Ibrahim PALABIYIK, Omer Said TOKER a Osman SAGDIC. *Chewing gum: Production, quality parameters and opportunities for delivering bioactive compounds* [online]. 2016, 55, 29-38 [cit. 2024-02-2]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi: 10.1016/j.tifs.2016.07.003.

[49] PALABIYIK, Ibrahim, Tuba GÜLERI, Recep GUNES, Barış ÖNER, Omer Said TOKER a Nevzat KONAR. A fundamental optimization study on chewing gum textural and sensorial properties: The effect of ingredients. *Food Structure* [online]. 2020, 26, 29-38 [cit. 2024-02-2]. ISSN 22133291. Dostupné z: doi:10.1016/j.foostr.2020.100155.

[50] PELIKÁN, Miloš; HUMPOLA, Josef a HŘIVNA, Luděk. Technologie sacharidů. In: . Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 2002, s. 154.

[51] Základy potravinárskych technológií: Spracovanie rastlinných a živočíšnych surovín cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín. Bratislava: Malé centrum, 1996. ISBN 80-967064-1-1.

[52] RENALDI, Gerry; JUNSARA, Kanthaporn; JANNU, Taruedee; SIRINUPONG, Nualpun a SAMAKRADHAMRONGTHAI, Rajnibhas Sukeaw. Physicochemical, te-tural, and sensory qualities of pectin/gelatin gummy jelly incorporated with Garcinia atroviridis and its consumer acceptability. In: *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 28. 2022. ISSN 1878450-. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100505.

[53] BESPALOV, V.G.; BARENENKO, D.A.; ALEKSANDROV, V.A.; SEMENOV, A.L.; KOVAN'KO, E.G.; IVANOV, S.D. Chemoprevention of radiation-induced carcinogenesis using decoction of meadowsweet *(Filipendula ulmaria)* flowers. Pharm Chem J. 2019; 52(10): 860–862.

[54] PERSUN'KO A.P., BESPALOV V.G., LIMARENKO A.I., ALEXANDROV V.A. Clinico-e-perimental study of using plant preparations from the flowers of Filipendula ulmaria (L.) Ma-im. for the treatment of precancerous changes and prevention of uterine cervical cancer. Vopr Onkol. 1993; 39(7-12): 291–295.

[55] AMOSOVA E., SHILOVA I., ZUEVA E., RYBALKINA O.Y. Influence of Filipendula ulmaria (L.) Ma-im. extract on Lewis lung carcinoma development and cytostatic therapy effectiveness in mice. Pharm Chem J. 2019; 53(5): 458–461.

[56] SAMARDZIC S, ARSENIJEVIC J, BOZIC D, MILENKOVIC M, TESEVIC V, MAKSIMOVIC Z. Antioxidant, anti-inflammatory and gastroprotective activity of Filipendula ulmaria (L.) Ma-im. and Filipendula vulgaris Moench. J Ethnopharmacol. 2018; 213(3): 132–137.

[57] SROKA Z, CISOWSKI W, SEREDYNSKA M, LUCZKIEWICZ M. Phenolic extracts from meadowsweet and hawthorn flowers have antioxidative properties. Z Naturforsch. 2001; 56(9-10): 739–744.

[58] HARBOURNE, Niamh; JACQUIER, Jean Christophe; O'RIORDAN, Dolores; SIRINUPONG, Nualpun a SAMAKRADHAMRONGTHAI, Rajnibhas Sukeaw. Optimisation of the aqueous extraction conditions of phenols from meadowsweet (Filipendula ulmaria L.) for incorporation into beverages. In: *Food Chemistry*. 116. 2009, s. 722-727. ISSN 03088146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.017.

[59] NEAGU, Elena; PAUN, Gabriela; ALBU, Camelia; RADU, Gabriel-Lucian; PAN, San-Po et al. Assessment of acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant activity of Alchemilla vulgaris and Filipendula ulmaria extracts. In: *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 52. 2015, s. 1-6. ISSN 18761070. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.01.026.

[60] SMEJKAL, Michal (1995): Filipendula Mill. – In: Slavík B. (ed.), Květena České republiky, vol. 4, Academia, Praha, pp. 49–53.

[61] SALVIA PARADISE, *Tužebník jilmový – Filipendula ulmaria: Herbář rostlin* [online]. Zaječov [cit. 2022-11-05]. Dostupné z: https://www.salviaparadise.cz/herbar-rostlin-tuzebnik-jilmovy-filipendula-ulmaria-c-736_1135.html

[62] OLENNIKOV, Daniil, Nina KASHCHENKO a Nadezhda CHIRIKOVA. Meadowsweet Teas as New Functional Beverages: Comparative Analysis of Nutrients, Phytochemicals and Biological Effects of Four Filipendula Species. *Molecules* [online]. 2017, 22(1) [cit. 2022-11-05]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22010016

[63] ANSARI M.S., MISRA N. 2007. Miraculous role of salicylic acid in plant and animal system. American Journal of Plant Physiology 2(1): 51 – 58

[64] KUMAR N., GOEL N. Phenolic acids: natural versatile molecules with promising therapeutic applications. Biotechnol Rep. 2019; 24(12): 1–10.

[65] OLENNIKOV D..N, KRUGLOVA M.Y. A new quercetin glycoside and other phenolic compounds from the genus Filipendula. Chem Nat Compd. 2013; 49(4): 610–616.

[66] BRUNKE E.J., HAMMERSCHMIDT F.J., SCHMAUS G. Flower scent of some traditional medicinal plants. In: teranishi R, Ed. bioactive volatile compounds from plants. Washington: American Chemical Society, 1993

[67] ASHOK, Praveen Kumar; UPADHYAYA, Kumud. Tannins are Astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2012, roč. 1, čís. 3. https://www.researchgate.net/publication/264783867_Tannins_are_Astringent

[68] VELÍŠEK, Jan, *Chemie potravin*. 3. vyd. vyd. Tábor: OSSIS 2 sv. s. ISBN 9788086659176, ISBN 8086659178. OCLC 505915318

[69] BIJTTEBIER S, VOORSPOELS S, APERS S, PIETERS L. A first step in the quest for the active constituents in Filipendula ulmaria (meadowsweet): comprehensive secondary metabolite identification by liquid chromatography-quadrupole orbitrap mass spectrometry. Planta Med. 2015; 81(16): 1545–1546.

[70] KIKUCHI H., YUAN B., Hu X., OKAZAKI M. Chemopreventive and anticancer activity of flavonoids and its possibility for clinical use by combining with conventional chemotherapeutic agents. Am J Cancer Res. 2019; 9(8): 1517–1535.

[71] KALKHORANI M, HADJIAKHOONDI A, YASSA N, AMIN M, DAMANKASH S, MORADKHANI F. Bioguided fractionation of *Centaurea bruguierana* subsp. *belangeriana* extract based on anti-*Helicobacter* pylori. Res J Pharmacogn. 2020; 7(1): 61–67.

[72] BLAZICS B, PAPP I, KÉRY A. LC-MS qualitative analysis and simultaneous determination of si- Filipendula salicylates with two standards. Chromatographia. 2010; 71: 61–67.

[73] PAPP I, SIMÁNDI B, BLAZICS B, ALBERTI Á, HÉTHELYI É, SZOKE É. Monitoring volatile and non-volatile salicylates in *Filipendula ulmaria* by different chromatographic techniques. *Chromatographia*. 2008; 68: 125–129.

[74] WOODS-PANZARU S, Nelson D, MCCOLLUM G, BALLARD LM, MILLAR BC, MAEDA Y. An e-amination of antibacterial and antifungal properties of constituents described in traditional Ulster cures and remedies. *Ulster Med* J. 2009; 78(1): 13–15.

[75] KATANIĆ, Jelena; BOROJA, Tatjana; STANKOVIĆ, Nevena; MIHAILOVIĆ, Vladimir; MLADENOVIĆ, Milan et al. Bioactivity, stability and phenolic characterization of Filipendula ulmaria (L.) Ma-im. Online. 2015, roč. 6, č. 4, s. 1164-1175. ISSN 2042-6496. Dostupné z: https://doi.org/10.1039/C4FO01208A. [cit. 2024-02-05].

[76] SUKHIKH, Stanislav; IVANOVA, Svetlana; SKRYPNIK, Liubov; BAKHTIYAROVA, Alina; LARINA, Viktoria et al. Study of the Antioxidant Properties of Filipendula ulmaria and Alnus glutinosa. Online. *Plants*. 2022, roč. 11, č. 18, s. 1164-1175. ISSN 2223-7747. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/plants11182415. [cit. 2024-02-05].

[77] SHILOVA, I. V.; KRASNOV, E. A.; KOROTKOVA, E. I.; NAGAEV, M. G.; LUKINA, A. N. et al. Antioxidant properties of extracts from the above-ground parts of Filipendula ulmaria. Online. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2006, roč. 40, č. 12, s. 660-662. ISSN 0091-150-. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s11094-006-0214-4. [cit. 2024-02-05].

[78] BINIECKA, Małgorzata a Sergio CAROLI, 2011. Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. **30**(11), 1756-1770. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2011.06.015

[79] ARTHUR, Catherine L. a Janusz. PAWLISZYN, 1990. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*. **62**(19), 2145-2148. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:10.1021/ac00218a019

[80] FALAKI, Foujan. Sample Preparation Techniques for Gas Chromatography. KUSCH, Peter, ed. Gas Chromatography - Derivatization, Sample Preparation, Application [online]. IntechOpen, 2019, 2019-9-4 [cit. 2024-02-05]. ISBN 978-1-83881- 865-4. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.84259

[81] SCHMIDT, Kamila a PODMORE, Ian. Current Challenges in Volatile Organic Compounds Analysis as Potential Biomarkers of Cancer. Online. *Journal of Biomarkers*. 2015, roč. 2015, s. 1-16. ISSN 2090-8660. Dostupné z: https://doi.org/10.1155/2015/981458. [cit. 2024-02-09].

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

[83] RANJAN MAJI, Smriti; ROY, Chaitali a KUMAR SINHA, Sandip. Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS): a comprehensive review of synergistic combinations and their applications in the past two decades. Online. *JOURNAL OF ANALYTICAL SCIENCES AND APPLIED BIOTECHNOLOGY*. 2023, roč. 5, č. 2, s. 72-85. ISSN 2665-8488. Dostupné z: https://doi.org/10.48402/IMIST.PRSM/jasab-v5i2.40209. [cit. 2024-02-09].

[84] MUNTEANU, Irina GEORGIANA a Constantin APETREI. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2021, 22(7) [cit. 2024-02-09]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22073380.

[85] MATTIOLI, Roberto; FRANCIOSO, Antonio; MOSCA, Luciana a SILVA, Paula. Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. Online. *Molecules*. 2020, roč. 25, č. 17. ISSN 1420-3049. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/molecules25173809. [cit. 2024-02-21].

[86] GIUSTI, M.Mónica a WROLSTAD, Ronald E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Online. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2001, roč. 00, č. 1. ISSN 2572-5602. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00. [cit. 2024-02-21].

[87] Antimicrobial Activity. Online. *Clinical Microbiology: Open Access*. ISSN 2327-5073. Dostupné z: https://www.walshmedicalmedia.com/scholarly/antimicrobial-activity-journals-articles-ppts-list-3252.html. [cit. 2024-02-10].

[88] BALOUIRI, Mounyr, Moulay SADIKI a Saad Koraichi IBNSOUDA, 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis. 6(2), 71-79. ISSN 20951779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005

[89] TENOVER, F.C.; LOH, Hwei San; WIART, Christophe; KHOO, Teng Jin; LIM, Kuan Hon et al. Antimicrobial Susceptibility Testing☆. Online. *Reference Module in Biomedical Sciences*. 2015, roč. 84, č. 2, s. 161-166. ISBN 9780128012383. ISSN 01677012. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.02486-7. [cit. 2024-02-10].

[90] PRUSTY, Jyoti Sankar; LOH, Hwei San; WIART, Christophe; KHOO, Teng Jin; LIM, Kuan Hon et al. Antifungal discovery from plant sources. Online. *Phytoconstituents and Antifungals*. 2022, roč. 84, č. 2, s. 15-33. ISBN 9780323917926. ISSN 01677012. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91792-6.00007-8. [cit. 2024-02-10].

[91] JORGENSEN, James H.; FERRARO, Mary Jane; WIART, Christophe; KHOO, Teng Jin; LIM, Kuan Hon et al. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. Online. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, roč. 49, č. 11, s. 1749-1755. ISBN 9780323917926. ISSN 1058-4838. Dostupné z: https://doi.org/10.1086/647952. [cit. 2024-02-10].

[92] KARAMAN, Didem Şen; MANNER, Suvi; FALLARERO, Adyary; ROSENHOLM, Jessica M.; LIM, Kuan Hon et al. Current Approaches for E-ploration of Nanoparticles as Antibacterial Agents: A Review of General Principles and Contemporary Practices. Online. *Antibacterial Agents*. 2017, roč. 49, č. 11, s. 1749-1755. ISBN 978-953-51-3199-1. ISSN 1058-4838. Dostupné z: https://doi.org/10.5772/68138. [cit. 2024-02-10].

[93] MONTALVÃO, Sofia Isabel G.H.M.; SINGH, Vineeta; HAQUE, Shafiul; ROSENHOLM, Jessica M.; LIM, Kuan Hon et al. Bioassays for Bioactivity Screening: A Review of General Principles and Contemporary Practices. Online. *Analysis of Marine Samples in Search of Bioactive Compounds*. Comprehensive Analytical Chemistry. 2014, roč. 49, č. 11, s. 79-114. ISBN 9780444633590. ISSN 1058-4838. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63359-0.00005-7. [cit. 2024-02-10].

[94] LAWLESS, Harry T. a Hildegarde HEYMANN. Sensory evaluation of food: principles and practices. Second edition. New York: Springer, 2010. Food science te-t series. ISBN 978-1-4419-6487-8

[95] ČSN EN ISO 5495. Senzorická analýza – Metodologie – Párová porovnávací zkouška. Praha: Český normalizační institut, 2009, 24 s.

[96] ČSN EN ISO 4120. Senzorická analýza – Metodologie – Trojúhelníková zkouška. Praha: Český normalizační institut, 2009, 20 s.

[97] JEŽEK, František a Alena SALÁKOVÁ. Senzorická analýza potravin. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012.

[98] ČSN EN ISO 8587. Senzorická analýza – Metodologie – Pořadová zkouška. Praha: Český normalizační institut, 2010, 20 s.

[99] ČSN EN ISO 13299. Senzorická analýza – Metodologie – Obecný návod pro vytvoření senzorického profilu. Praha: Český normalizační institut, 2010, 20 s.

[100] ČSN EN ISO 4121. Senzorická analýza – Metodologie – Obecné pokyny pro použití kvantitativních odpovědních stupnic. Praha: Český normalizační institut, 2010, 21 s.

[101] DEMARS, Laura L a ZIEGLER, Gregory R. Te-ture and structure of gelatin/pectin-based gummy confections. Online. *Food Hydrocolloids*. 2001, roč. 15, č. 4-6, s. 643-653. ISSN 0268005-. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S0268-005-(01)00044-3. [cit. 2024-03-03].

[102] KHOURYIEH, HANNA A.; ARAMOUNI, FADI M. a HERALD, THOMAS J. PHYSICAL, CHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF SUGAR-FREE JELLY*. Online. *Journal of Food Quality*. 2005, roč. 28, č. 2, s. 179-190. ISSN 0146-9428. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2005.00014.-. [cit. 2024-03-03].

[103] UTOMO, Bagus Sediadi Bandol; DARMAWAN, Muhamad; ARDI, Debby T. a HAKIM, Arif Rahman. PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND SENSORY EVALUATION OF JELLY CANDY MADE FROM DIFFERENT RATIO OF – CARRAGEENAN AND KONJAC. Online. *Squalen Bulletin of Marine & Fisheries Postharvest & Biotechnology*. 2014, roč. 9, č. 1, s. 25-34. ISSN 2089-5690. Dostupné z: http://www.bbp4b.litbang.kkp.go.id/squalen-bulletin/inde-.php/squalen. [cit. 2024-03-03].

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

[105] TRIAUX, Zélie; BRIARD, Léa; PETIT, Odile; MARCHIONI, Eric a JULIEN-DAVID, Diane. Effect of simulated foregut digestion on the antioxidant capacity of plants naturally consumed by horses. Online. Animal Feed Science and Technology. 2021, roč. 282. ISSN 03778401. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115121. [cit. 2024-04-01].

[106] NEAGU, Elena, et al. Assessment of acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant activity of Alchemilla vulgaris and Filipendula ulmaria extracts. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2015, 52: 1-6.

[107] EVERETTE, Jace D.; BRYANT, Quinton M.; GREEN, Ashlee M.; ABBEY, Yvonne A.; WANGILA, Grant W. et al. Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin−Ciocalteu Reagent. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, roč. 58, č. 14, s. 8139-8144. ISBN 9780123849533. ISSN 0021-8561. Dostupné z: https://doi.org/10.1021/jf1005935. [cit. 2024-04-18].

[108] PADMANABHAN, P.; CORREA-BETANZO, J. a PALIYATH, G. Berries and Related Fruits. Online. *Encyclopedia of Food and Health*. 2016, s. 364-371. ISBN 9780123849533. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00060-X. [cit. 2024-04-18].

[109] SOKOLOV, Nikita S.; SHARIPOVA, Safia Kh.; SAZANOVA, Ksenia N. a LYAMIN, Artem V. A comparative evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from aerial

organs of meadowsweet (*Filipendula Ulmaria (L.) Maxim*.) and dropwort (*Filipendula Hexapetala Gilib*.). Online. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2022, roč. 22, č. 4, s. 63-68. ISSN 2410-3764. Dostupné z: https://doi.org/10.55531/2072-2354.2022.22.4.63-68. [cit. 2024-04-20].

[110] OPALKO, Anatoly; WEISFELD, Larissa I.; BEZURAKOVA, Sarra A.; BOME, Nina A. a ZAIKOV, Gennady. Evaluation of collection of medicinal herbs acoording to phytoncidic activity. Online. In: *Ecological consequences of increasing crop productivity*. Canada: Apple academic press, 2015, s. 110-113. ISBN 978-1-77188-012-1. Dostupné z: https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=8_CsBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA107&ots=xPcyk248lX&sig=4Z0V76c1dx6EgMqdmzDDZHtohRA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false. [cit. 2024-04-20].

[111] *Study of antibacterial activity of selected Iranian plant extracts on Helicobacter pylori*. Online. 2013, roč. 5, č. 1. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences, 2013. ISSN 2279-0853. Dostupné z: https://www.iosrjournals.org/. [cit. 2024-04-09].

[112] *Antimicrobial Effect of Filipendula ulmaria Plant Extract Against Selected Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria in Laboratory Media, Fish Flesh and Fish Roe Product*. Online. 2011, roč. 2, č. 49. 2011. ISSN 1330-9862. [cit. 2024-04-09].

[113] *Antimicrobial properties of protein extracts from wild mushroom fungi and native plant species against hospital pathogens*. Online. 2010, roč. 2, č. 8. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 2010. ISSN 2141-2502. Dostupné z: https://pure.ulster.ac.uk/en/publications/antimicrobial-properties-of-protein-extracts-from-wild-mushroom-f-3. [cit. 2024-04-09].

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAL	Aromaticky aktivní látky
ABTS	2,2‘-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
ANOVA	Analýza rozptylu *(Analysis of Variance)*
CA	Mezinárodní potravinářský kodex *(Codex Alimentarius)*
CAS	Registrační číslo *(Chemical Abstracs Service)*
CCM	Česká sbírka mikroorganismů *(Czech collection of mikroorganisms)*
ČR	Česká republika
ČSN	Česká technická norma
DE	Dextrose ekvivalent
DPPH	2,2-di(4-tert-oktylfenyl)-1-pikrylhydrazyl
EN	Evropská norma
EU	Evropská unie
FCH VUT	Fakulta chemická Vysokého učení technického
FUA	Extrakt *F. ulmaria* z nadzemní částí rostliny
FUR	Extrakt *F. ulmaria* z podzemní částí rostliny
GAE	Ekvivalent kyseliny gallové *(Gallic Acid Equivalent)*
GC	Plynový chromatograf *(Gas Chromatography)*
GC-FID	Plynová chromatografie s plamenovou ionizační detekcí *(Gas Chromatography with Flame Ionization Detection)*
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí *(Gas Chromatography Mass Spektrometry)*
HM	Vysokoesterifikované *(High Methoxyl)*
HPLC	Vysokoúčinný kapalinový chromatograf *(High Perfomance Liquid Chromatography)*
HS	Prostor nad vzorkem *(Head-Space)*
HS-SPME	Mikroextrakce tuhou fází z fáze nad vzorkem *(Headspace Solid Phase Microextraction)*
HS-SPME-GC-MS	Mikroextrakce tuhou fází nad vzorkem ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci *(International Organization for Standardization)*
LC	Kapalinová chromatografie *(Liquid chromatography)*
LLC	Lewisův karcinom plic *(Lewis lung carcinoma)*
LM	Nízkoesterifikované *(Low Methoxyl)*
MIC	Minimální inhibiční koncetrace
MS	Hmotnostní spektrometrie *(Mass spektrometry)*

PC	Papírová chromatografie *(Paper Chromatography)*
RSD	Relativní směrodatná odchylka *(Relative Standard Deviation)*
RP-HPLC	Reverzní fáze vysokoúčinné kapalinové chromatografie *(Reverse phase High Perfomance Liquid Chromatography)*
SPME	Mikroextrakce tuhou fází *(Solid Phase Microextraction)*
TEAC	Ekvivalent antioxidační aktivity troloxu *(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)*
TLC	Tenkovrstvá chromatografie *(Thin-layer chromatography)*
TPC	Celkový obsah fenolických látek *(Total Phenolic Content)*
VUT	Vysoké učení technické

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1	Protokol pro senzorickou analýzu – optimalizace obsahu a druhu sladidla
Příloha 2	Protokol pro senzorickou analýzu – optimalizace přídavku bylinných extraktů a druhu želírující látky
Příloha 3	Ukázka chromatogramu vzorku želé cukrovinky s 8 % extraktu (viz Tabulka 14)
Příloha 4	Ukázka chromatogramu vzorku želé cukrovinky s 5 % extraktu (viz Tabulka 14)

9 PŘÍLOHY

PŘÍLOHA 1: Protokol pro senzorickou analýzu – optimalizace obsahu a druhu sladidla

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK

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

Datum: _____ Zdravotní stav:
Čas: _____ kuřák/nekuřák
žena/muž

Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?

- želatinové cukrovinky mám velmi rád/a
- želatinové cukrovinky nemám příliš rád/a, ale nevadí mi
- želatinové cukrovinky nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

Zhodnoťte předložené vzorky v následujících znacích podle uvedených instrukcí, použijte uvedené stupnice, svá hodnocení zapište do uvedené tabulky.

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

Příjemnost chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete celkovou příjemnost chuti vzorku

Kód vzorku:

Nepříjemná — Velmi příjemná

Uveďte důvody svého rozhodnutí:

2. **Profilový test vybraných chutí** – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu uvedených dílčích chutí vzorku

Kód vzorku:

Kyselá

Neznatelná — Velmi výrazná

Sladká

Neznatelná — Velmi výrazná

Umělá

Neznatelná — Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná — Velmi výrazná

Popište případnou pachuť:

3. **Příjemnost sladké chuti** – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost sladké chuti vzorku

Kód vzorku:

Málo sladká — Optimálně sladká — Příliš sladká

PŘÍLOHA 2: Protokol pro senzorickou analýzu – optimalizace přídavku bylinných extraktů a druhu želírující látky

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINEK

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

Datum: _____ Zdravotní stav:
Čas: _____ kuřák/nekuřák
žena/muž

Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?

- želatinové cukrovinky mám velmi rád/a
- želatinové cukrovinky nemám příliš rád/a, ale nevadí mi
- želatinové cukrovinky nemám vůbec rád/a, nekonzumuji je.

Zhodnoťte předložené vzorky v následujících znacích podle uvedených instrukcí, použijte uvedené stupnice či tabulky, jedna stupnice je určena pro 3 vzorky z jedné série.

1. **Barva**

Intenzita barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu barvy vzorku

Kód vzorku:

Nejméně intenzivní — Nejvíce intenzivní

Příjemnost barvy – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost barvy vzorku (odstín, barevné skvrny, jiné výrazné vady – bublinky apod.)

Kód vzorku:

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

2. **Vůně**

Intenzita vůně – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu vůně vzorku

Kód vzorku:

Nejméně intenzivní — Nejvíce intenzivní

3. **Konzistence (te-tura)**

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

Kód vzorku:

Příliš měkká — Optimální — Příliš tuhá

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

Příjemnost chuti – pomocí uvedené grafické stupnice určete příjemnost chuti vzorku

Kód vzorku:

Nejméně příjemná — Nejvíce příjemná

Uveďte důvody svého rozhodnutí:

5. **Profilový test vybraných chutí** – pomocí uvedené grafické stupnice určete intenzitu uvedených dílčích chutí vzorku

Kód vzorku:

Kyselá

Neznatelná — Velmi výrazná

Sladká

Neznatelná — Velmi výrazná

Hořká

Neznatelná — Velmi výrazná

Jiná (pachuť)

Neznatelná — Velmi výrazná

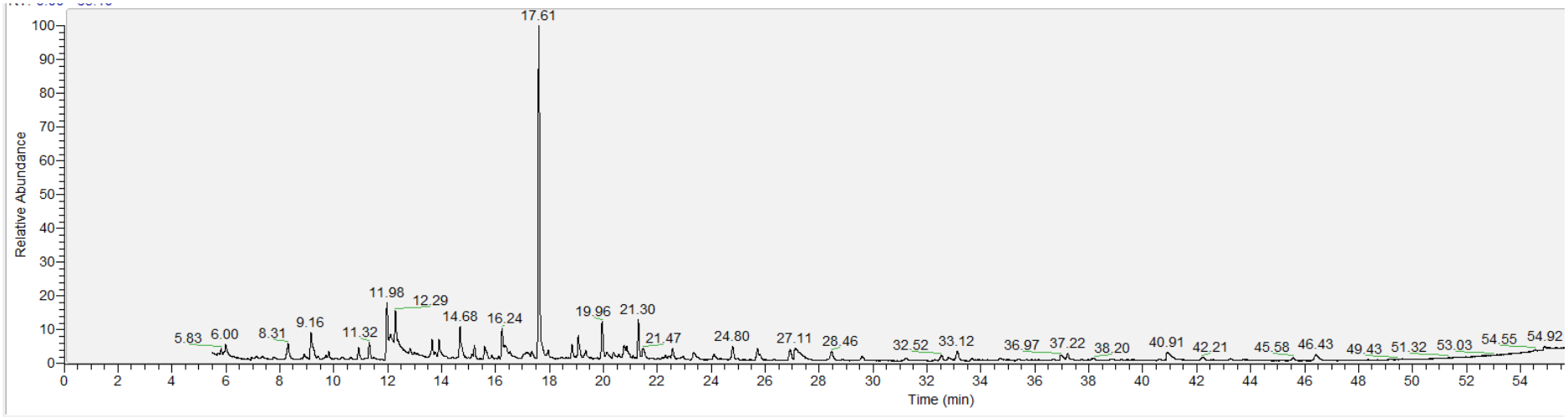
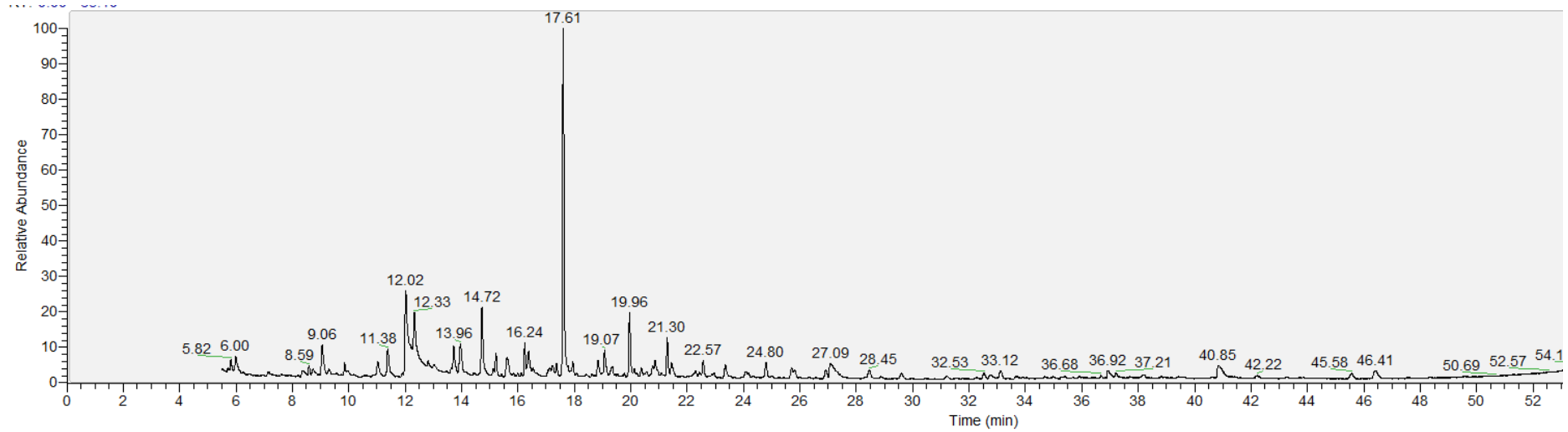
Popište případnou pachuť:

6. **Pořadová zkouška**

Seřaďte vzorky dle celkové přijatelnosti od nejlepšího po nejhorší (1 – nejlepší; 6 – nejhorší)

Vzorek	**KR34**	**CT75**	**PL09**	**SV62**	**EQ83**	**J-27**
Pořadí						

PŘÍLOHA 3: Ukázka chromatogramu vzorku želé cukrovinky s 8 % extraktu (viz Tabulka 14)



PŘÍLOHA 4: Ukázka chromatogramu vzorku želé cukrovinky s 5 % extraktu (viz Tabulka 14)