



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

**PŘÍTOMNOST ALERGENNÍCH VONNÝCH LÁTEK V
NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINKÁCH**

THE PRESENCE OF ALLERGENIC AROMA COMPOUNDS IN SWEETS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Petra Plevová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2016



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0978/2015	Akademický rok: 2015/2016
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Bc. Petra Plevová	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (N2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí práce	Ing. Eva Vítová, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. Martina Mahdalová	

Název diplomové práce:

Přítomnost alergenních vonných látek v nečokoládových cukrovinkách

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled o:
 - stanovení vonných látek v cukrovinkách
 - možnostech sensorického hodnocení cukrovinek
2. Pomocí metody SPME-GC identifikujte a kvantifikujte vybrané vonné látky ve vzorcích nečokoládových cukrovinek
3. Pomocí vhodných sensorických metod zhodnoťte sensorickou kvalitu vzorků
4. Zhodnoťte vliv obsahu vonných látek na sensorickou kvalitu vzorků, diskutujte možné biologické účinky

Termín odevzdání diplomové práce: 6.5.2016

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Petra Plevová
Student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá stanovením aromaticky aktivních látek v nečokoládových cukrovinkách a jejich vlivem na senzorické vlastnosti těchto cukrovinek. Teoretická část je zaměřena na 26 potenciálně alergenních látek a jejich stanovení metodou SPME-GC-FID, (mikroextrakcí tuhou fází, ve spojení s plynovou chromatografií s plamenově ionizačním detektorem) a senzorickou analýzu.

Cílem experimentální části bylo pomocí metody SPME-GC-FID identifikovat a kvantifikovat aromaticky aktivní látky obsažené ve vybraných druzích nečokoládových cukrovinek běžně dostupných v obchodních sítích a zjistit vliv přítomnosti a množství těchto látek na senzorický profil vybraných cukrovinek.

ABSTRACT

This thesis deals with the determination of aroma active compounds in non-chocolate confectionery and their influence on the sensory properties of these sweets. The theoretical part is focused on the 26 potentially allergenic substances and their determination by SPME-GC-FID (a solid phase microextraction, gas chromatography with flame ionisation detector) and sensory analysis.

In the experimental part SPME-GC-FID method was used to identify and quantify aroma active substances contained in the selected samples of confectioneries commonly available in food market and find out influence of presence and amounts of these substances on sensory profile of selected confectionery.

KLÍČOVÁ SLOVA

vonné látky, cukrovinky, SPME, GC, senzorická analýza

KEYWORDS

aroma compounds, sweets, SPME, GC, sensory analysis

PLEVOVÁ, P. *Přítomnost alergenních vonných látek v nečokoládových cukrovinkách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 69 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Děkuji Ing. Evě Vítové Ph. D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při psaní této diplomové práce. Také své rodině za podporu a trpělivost a všem, kteří se zúčastnili senzorického hodnocení.

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1 Nečokoládové cukrovinky.....	8
2.2 Vonné látky	8
2.2.1 Ovocné aroma	9
2.3 Legislativa	9
2.3.1 Legislativa potravinářských výrobků	9
2.3.2 Kosmetická legislativa	11
2.3.2.1 Kosmetická legislativa v České republice.....	14
2.4 Vlastnosti a použití aromatických potenciálně alergenních látek	14
2.5 Použité metody – stanovení aromatických látek	17
2.5.1 Mikroextrakce tuhou fází	17
2.5.2 Plynová chromatografie	18
2.5.3 Detektory	19
2.5.3.1 Olfaktometrický detektor	19
2.5.3.2 Hmotnostní spektrometrie	19
2.5.3.3 Plamenově ionizační detektor	20
2.6 Senzorická analýza	21
2.6.1 Senzorická laboratoř.....	21
2.6.2 Hodnotitelé	21
2.6.3 Hedonické a intenzitní hodnocení	22
2.6.4 Profilový test	22
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	23
3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie	23
3.1.1 Plyny.....	23
3.1.2 Přístroje	23
3.1.3 Pracovní pomůcky.....	23
3.1.4 Chemikálie	23
3.2 Analyzované vzorky.....	24
3.3 Metoda SPME-GC-FID.....	33
3.3.1 Příprava vzorků pro stanovení aromatických látek	33
3.3.2 Podmínky SPME-GC-FID analýzy	33
3.3.3 Vyhodnocení výsledků SPME-GC-FID analýzy	33
3.4 Senzorické hodnocení	34
3.4.1 Příprava vzorků pro senzorické hodnocení	34
3.4.2 Použité metody.....	34
3.4.3 Vyhodnocení výsledků senzorické analýzy	34
4 VÝSLEDKY A DISKUZE	35
4.1 Stanovení aromatických látek pomocí SPME-GC-FID	35
4.2 Identifikace a kvantifikace aromatických látek v reálných vzorcích cukrovinek	36
4.3 Srovnání obsahu identifikovaných sloučenin ve vzorcích	39
4.4 Výsledky senzorické analýzy	47
4.4.1 Výsledky hodnocení podle stupnice.....	47
4.4.2 Výsledky profilového testu	49
4.4.3 Časové dozrívání chuti	54
5 ZÁVĚR	56
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	58
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	61

8 SEZNAM PŘÍLOH	62
9 PŘÍLOHY	63

1 ÚVOD

Se zvyšující se spotřebou nečokoládových cukrovinek (v roce 2014 3,1 kg/osobu/rok) se zvyšují i nároky na jejich kvalitu a kontrolu aditivních senzoryicky aktivních látek. Mezi tyto látky patří i 26 potenciálně alergenních substancí, daných kosmetickou legislativou, konkrétně v Příloze III Kosmetické direktivy (2003/15/EC), jejichž přítomnost v potravinách není právně kontrolována. Pouze pro kosmetické výrobky je dána limita, kdy musí být vonné látky uvedeny na obalu, v závislosti na druhu výrobku. Produkty smývatelné do 20 minut (rinse-off) 100 mg.kg^{-1} (0,001 %) a produkty nesmývatelné do 20 minut (leave-on) 10 mg.kg^{-1} (0,01 %).

Trendem dnešní doby je používat pro výrobu nečokoládových cukrovinek přírodní barviva a aroma, což v praxi znamená např. používání ovocných a zeleninových šťáv a extraktů. A protože většina vonných látek je rostlinného původu, pak přítomnost ovocných koncentrátů a extraktů v želatinových bonbónech nevylučuje přítomnost vonných alergenů v těchto produktech. Vonné látky mohou být přirozenou součástí potravin, nebo se mohou cíleně do výrobků přidávat s cílem aromatizovat nebo zvýraznit aroma potravin.

I přesto, že český zákazník je konzervativní, a rád nakupuje výrobky, které zná, dochází v produkci nečokoládových cukrovinek k inovacím a výrobě nových druhů bonbónů. Mění se tvary, přidávají se nové příchutě, a to vše s cílem větší atraktivity výrobku pro zákazníka, a tím většího prodeje.

Tato práce se v teoretické části zabývá popisem jednotlivých potenciálních alergenních látek, které se mohou vyskytovat v nečokoládových cukrovinkách a metodami jejich stanovení. V praktické části budou v osmi druzích nečokoládových cukrovinek identifikovány a kvantifikovány potenciálně alergenní aromatické látky metodou SPME-GC-FID. Dále bude těchto osm druhů cukrovinek podrobena senzoryické analýze a následně zhodnoceno, zda přítomnost některých identifikovaných sloučenin má vliv na jejich senzoryický profil.

2 TEORETICKÁ ČÁST

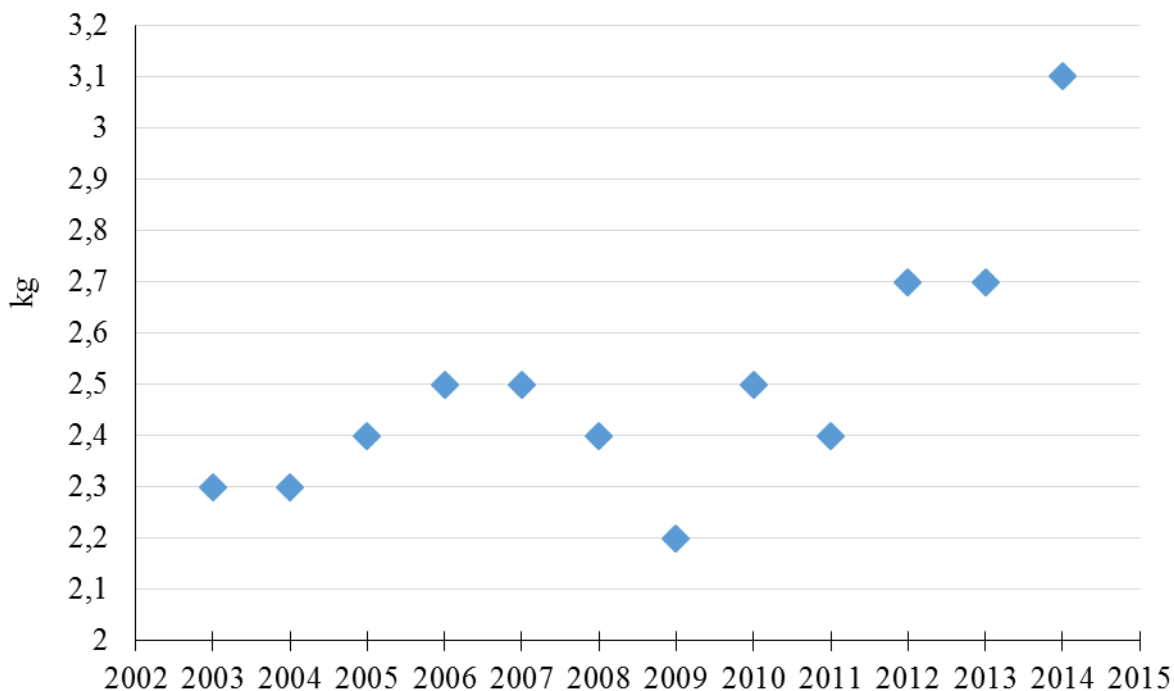
V teoretické části je shrnuta aktuální legislativa ohledně rozdělení nečokoládových cukrovinek a legislativa pro potenciálně alergenní sloučeniny (PASS) v potravinářství a kosmetickém průmyslu. Byly vyhledány potenciálně použitelné metody pro stanovení aromatických látek v nečokoládových cukrovinkách.

2.1 Nečokoládové cukrovinky

Nečokoládové cukrovinky rozdělujeme podle toho, zda mají vykrytalizovanou sacharosou nebo ne. To záleží na tzv. *varném poměru*, což je poměr sacharosy ku glukosovému sirupu [1,2].

Cukrovinky dělíme na amorfni, mezi které patří želé, kandyty, karamely a cukrovinky s vykrytalizovanou sacharosou, což jsou fondán, marcipán, komprimáty a dražé [1,2].

Roční spotřeba nečokoládových cukrovinek na osobu v České republice během let vykazuje mírný nárůst, jak je patrné z **Grafu 1**. Spotřeba nečokoládových cukrovinek v kg zahrnuje např. tvrdé bonbóny bez náplně i s náplní, karamely, žvýkačky, želatinové cukrovinky, lízátko a podobné [3].



Graf 1 Spotřeba nečokoládových cukrovinek v ČR v kg/osobu/rok [3]

2.2 Vonné látky

Jsou chemicky definované látky, které působí na čichové nebo chuťové receptory a vyvolávají dojem vůně a chuti. Vůně potravin je často komplexním vjemem způsobeným velkým počtem vonných látek. Celkově se odhaduje, že počet vonných látek je téměř 10 000. Ač se na výsledné vůni obvykle podílí řada sloučenin, některé mají zásadní význam pro výsledné aroma. Jednotlivé tzv. *klíčové složky* vůně lze v omezeném počtu případů spojovat s vůní jediné nebo několika málo sloučenin. Například sloučeniny cinnamaldehyd, eugenol, citral a benzaldehyd jsou typické pro skořici, respektive hřebíček, citrony a hořké mandle [4].

Aromatické látky mohou být *přírodní*, získané fyzikálními, enzymovými nebo mikrobiálními postupy z produktů rostlinného nebo živočišného původu, nebo *umělé*, vzniklé

chemickou syntézou nebo izolované za použití chemických procesů, identické i neidentické s látkami přítomnými ve zdrojích rostlinného či živočišného původu. [5]

Při označování potravin se výraz „přírodní aromatická látka“ může používat pouze pro látky určené k aromatizaci, v nichž aromatická složka obsahuje výhradně přírodní aromatické látky. Výraz „přírodní“ lze používat pouze ve spojení s odkazem na potravinu, kategorii potravin nebo rostlinný či živočišný zdroj aromatu, pokud alespoň 95 % hmotnostních aromatických složek bylo získáno z uvedeného materiálu [5].

2.2.1 Ovocné aroma

Do mnoha druhů nečokoládových cukrovinek se přidávají pro výsledné aroma ovocné šťávy. Na obalech cukrovinek je pak kromě slova „aroma“ zaznamenáno i specifické ovoce, které buď bylo použito pro výrobu, nebo jeho chuť a vůni má cukrovinka připomínat. Pro naše potřeby je zdůrazněn obsah sloučenin, které jsou evropskou legislativou označeny jako potenciálně alergenní (PASs) [4].

Součástí jablečného aroma je například linalool. Jahodové aroma tvoří více než 400 sloučenin, přičemž význam mnohých z nich není dosud zcela prokázán [4].

Citrusové ovoce běžně obsahuje několik desítek až stovek sloučenin. Hlavní složkou všech citrusových plodů bývá limonen, který určuje základní senzorický charakter silic, ale jeho přítomnost není nezbytná. Limonen snadno podléhá autooxidaci, a je proto zdrojem nestability šťáv a silic získaných z citrusových plodů. Dalšími důležitými složkami citrusové vůně jsou například citral, linalool, citronellol, geraniol [4].

Pomerančové aroma je tvořeno řadou látek, například citral a linalool jsou součástí pomerančové vůně, kterou lze dnes již vyrobit z cca 15 aromatických složek. Důležitou složkou vůně citronů je například citronellol, citral [4].

2.3 Legislativa

Nečokoládové cukrovinky jsou v České republice legislativně ukotveny v Zákonu č. 110/1997 Sb., konkrétně ve Vyhlášce č. 76/2003 Sb. Ty pojednávají pouze o členění cukrovinek (Příloha 4 Vyhlášky č. 76/2003 Sb.) a fyzikálních a chemických požadavcích na cukrovinky (Příloha 5 Vyhlášky č. 76/2003 Sb.), nikoliv o kontrole přidávání a množství vonných potenciálně alergenních látek [6,7].

Aktuálně v České republice neexistuje zákon nebo vyhláška, které by definovaly a kontrolovaly obsah 26 potenciálně alergenních aromatických látek, které mohou být použity jako přídatné látky v potravinách. Pro přiblížení ale lze využít zákonů a vyhlášek, které upravují obsah PASs v kosmetických výrobcích [8,9].

2.3.1 Legislativa potravinářských výrobků

V této kapitole jsou uvedeny legislativní předpisy související s cukrovinkami [6,7].

- Zákon 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů ve znění pozdějších předpisů
 - Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kaka a s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony.

V příloze 4 Vyhlášky č. 76/2003 Sb. se nečokoládové cukrovinky rozdělují na druhy, skupiny a podskupiny dle **Tabulky 1** [7].

Tabulka 1 Členění nečokoládových cukrovinek na druhy, skupiny a podskupiny [7]

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

Příloha 5 Vyhlášky č. 76/2003 Sb. stanovuje fyzikální a chemické požadavky na jakost cukrovinek, které jsou vypsány v **Tabulce 2** [7].

Tabulka 2 Fyzikální a chemické požadavky na jakost cukrovinek [7]

Skupina	Vlhkost (v % hm. nejvýše)
Karamely	–
Dražé	–
Želé	22,0
Rahat, chalva	20,0
Turecký med	8,0
Lékořicové cukrovinky	19,0
Pěnové cukrovinky	25,0
Fondánové cukrovinky	12,0

Tabulka 2 Fyzikální a chemické požadavky na jakost cukrovinek [7] – pokračování

Skupina	Vlhkost (v % hm. nejvýše)
Komprimáty s glukosou	10,0
Komprimáty ostatní	7,0
Žvýkačky	při 105 °C 7,5
Dropsy: Lité a lisované kandyty Protahované	5,0 6,0
Roksy	6,0
Furé	—

2.3.2 Kosmetická legislativa

Aromatické substance, které jsou stanoveny v experimentální části, jsou dle kosmetické legislativy označeny jako potenciálně alergenní. Evropská Unie vydala v roce 2003 zákon v příloze III EU Kosmetické direktivy (direktiva 2003/15/EC) [10], která stanovila podmínky použití do kosmetických produktů pro těchto 26 vůní souvisejících se substancemi klasifikovanými jako potenciálně alergenní. Z těchto 26 vonných látek (**Tabulka 3**) 24 jsou chemicky definované těkavé sloučeniny, zatímco zbývající dvě jsou přírodní mechové extrakty a nekorespondují s definovanými chemikáliemi [11,12,13].

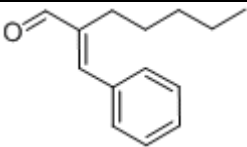
Vyhláška č. 447/2004 Sb., o požadavcích na množství a druhy látek určených k aromatizaci potravin, podmínky jejich použití, požadavky na jejich zdravotní nezávadnost a podmínky použití chininu a kofeinu byla předpisem č. 260/2012 Sb. Vyhláška o zrušení vyhlášky č. 447/2004 Sb. o požadavcích na množství a druhy látek určených k aromatizaci potravin, podmínky jejich použití, požadavky na jejich zdravotní nezávadnost a podmínky použití chininu a kofeinu k 1. srpnu 2012 zrušena [14,15].

Aktuálně je problematika aromatických látek v potravinách právně ošetřena především Nařízením č. 1334/2008/ES a příslušnými prováděcími přílohami (793/2012/ES a 872/2012/ES) [5,9,16].

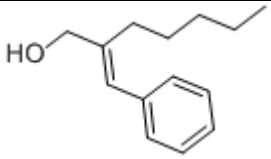
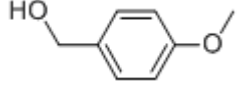
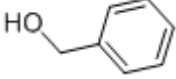
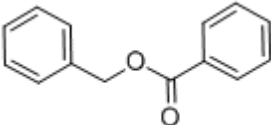
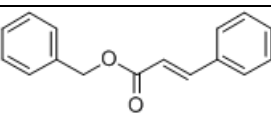
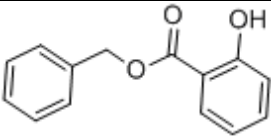
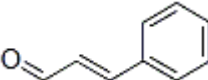
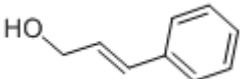
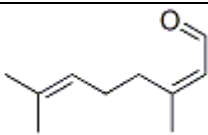
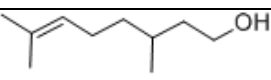
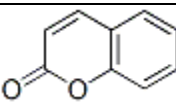
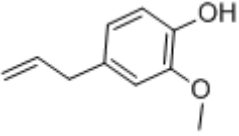
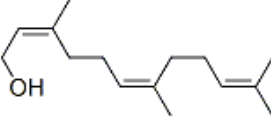
Z 26 vonných látek definovaných Kosmetickou direktivou (2003/15/EC) je v potravinářském průmyslu limitován pouze kumarin z Nařízení 1334/2008/ES kvůli jeho toxicitě a podezření z karcinogenních účinků [17,18].

Kumarin nelze v potravinářství použít jako aditivní látku, může se však v některých potravinách nacházet jako přirozená složka, v takovém případě je jeho obsah limitován právě podle Nařízení 1334/2008/ES [16].

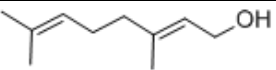
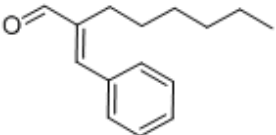
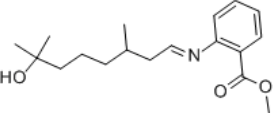
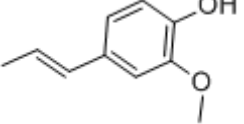
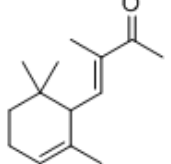
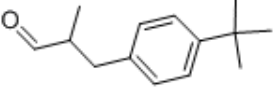
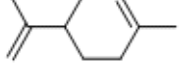
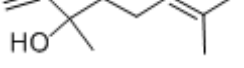
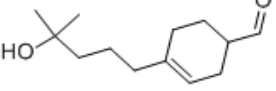
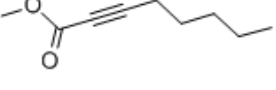
Tabulka 3 Potenciálně alergenní substance [11,12]

PASs INCI název CAS číslo	Synonymum	Struktura
Amyl cinnamal [122-40-7]	(2E)-2-benzylidenheptanal	

Tabulka 3 Potenciálně alergenní substance [11,12] – pokračování

PASs INCI název CAS číslo	Synonymum	Struktura
Amylcinnamyl alcohol [101-85-9]	(2Z)-2-benzylidenheptan-1-ol	
Anise alcohol [105-13-5]	(4-methoxyfenyl)methanol	
Benzyl alcohol [100-51-6]	fenylmethanol	
Benzyl benzoate [120-51-4]	benzylbenzoát	
Benzyl cinnamate [103-41-3]	benzyl(2E)-3-fenylakrylát	
Benzyl salicylate [118-58-1]	benzylsalicylát	
Cinnamal [104-55-2]	(2E)-3-fenylakrylaldehyd	
Cinnamyl alcohol [104-54-1]	(2E)-3-fenylprop-2-en-1-ol	
Citral [5392-40-5]	(2Z)-3,7-dimethylokta-2,6-dienal	
Citronellol [106-22-9]	3,7-dimethyloct-6-en-1-ol	
Coumarin [91-64-5]	1-benzopyran-2-on	
Eugenol [97-53-0]	4-allyl-2-methoxyfenol	
Farnesol [106-28-5]	(2E,6E)-3,7,11-trimethyldodeka-2,6,10-trien-1-ol	

Tabulka 3 Potenciálně alergenní substance [11,12] – pokračování

PASs INCI název CAS číslo	Synonymum	Struktura
Geraniol [106-24-1]	(2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-ol	
Hexyl cinnamal [101-86-0]	(2E)-2-benzylidenoktanal	
Hydroxycitronellal [107-75-5]	7-hydroxy-3,7-dimethyloktanal	
Isoeugenol [97-54-1]	2-methoxy-4-[(1E)-prop-1-en-1-yl]fenol	
α -isomethylionon [127-51-5]	(3E)-3-methyl-4-[(1S)-2,6,6-trimethylcyklohex-2-en-1-yl]but-3-en-2-on	
Lilial [80-54-6]	3-(4-terc-butylfenyl)-2-methylpropanal	
Limonen [5989-27-5]	4-isopropenyl-1-methylcyklohexen	
Linalool [78-70-6]	3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol	
Lylal [31906-04-4]	4-(4-hydroxy-4-methylpentyl)cyklohex-3-en-1-karbaldehyd	
Methyl-2-octynoate [111-12-6]	methyl okt-2-ynoát	
Oakmoss extrakt [90028-68-5]		
Treemoss extrakt [90028-67-4]		

Pro všechny testované látky jsou definována stejná limitní množství, aby byl výrobek označen jako „bezalergenní“. Pro kosmetiku *rinse-off*, která se po nanesení do 20 minut z pokožky smývá, je tento limit 0,01 %, tedy 100 mg.kg⁻¹ a pro kosmetické výrobky označené jako *leave-on*, které se z pokožky do 20 minut nesmývají, je tento limit 0,001 %, tedy 10 mg.kg⁻¹ [11].

2.3.2.1 Kosmetická legislativa v České republice

- Zákon č. 223/2013 Sb. kterým se mění zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů [19].

2.4 Vlastnosti a použití aromatických potenciálně alergenních látek

Jednotlivé potenciální alergeny se chemicky rozdělují do několika skupin, například alkoholy (linalool, geraniol), aldehydy (lilial, citral), ketony (α -isomethyl ionone, kumarin) a další. Jejich vlastnosti a použití jsou sepsány v **Tabulce 4** [12,20].

Tabulka 4 Vlastnosti a použití PASs [4,20-24]

Alergen	Vlastnosti a použití
Amylcinnamal	Běžná aromatická látka. Vyskytuje se v mnoha silicích květů, zvláště v silici z jasmínových květů. Je velmi rozšířená, poskytuje velmi přirozenou „jasmínovou vůni“. Často se používá k parfemaci různých výrobků chemického a potravinářského průmyslu.
Amylcinnamyl alkohol	Aromatická syntetická látka často používaná v potravinářství a v kosmetickém průmyslu. Bezbarvá, čirá kapalina má příjemnou vůni broskví, banánů a hrušek s jasmínovou chutí. Vyskytuje se například v parfémovaných kosmetických výrobcích, v ovocných aromatizovaných čajích a v cukrovinkách.
Anýz alkohol	Bílá, lehce nažloutlá kapalina, vyskytující se i v přírodě (v anýzových semenech, v květech hyacintů, v medu a ve vanilkových luscích). Je součástí vůní anýzu, květů jabloní, meruněk, banánu, karafiátu, černého rybízu, třešní, hroznů a řady dalších. Často používána v kosmetickém průmyslu (v krémech, v pudrech, ve vonných svíčkách).
Benzylalkohol	Čirá, bezbarvá až nažloutlá olejovitá kapalina, výjimečně pevná látka. Má nasládlou mandlově-ovocnou vůni. V přírodě se vyskytuje v jasmínu, v pomerančových květech aj. Má anestetické, antiseptické a antipruriginózní účinky. Používá se jako antimikrobiální konzervační látka ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Dále také jako rozpouštědlo pro různé látky používané v léčivech, pro vonné látky v kosmetice, ale i ve fotografickém průmyslu a v průmyslu barev. V potravinářství se používá jako aditivum v ovocných trestích, nápojích nebo bonbonech.

Tabulka 4 Vlastnosti a použití PASs [4,20-24] – pokračování

Alergen	Vlastnosti a použití
Benzylbenzoát	Benzylbenzoát se vyskytuje ve formě bezbarvých nebo téměř bezbarvých krystalů nebo kapaliny. Má příjemnou aromatickou balzamicko-mandlovou vůni. Je součástí peruánského a toluánského balzámu, používá se jako součást insekticidů. V kosmetice se využívá i jako stabilizátor vůní nebo jako rozpouštědlo. V potravinářském průmyslu se používá jako aditivum. Dále se používá v humánní a veterinární terapii jako ektoparazitikum.
Benzylcinnamát	Vyskytuje se ve dvou izomerech. Tato vonná látka typu balzámu má sladkou vůni květů a plodů třešní. Používá se v kosmetickém průmyslu do sladkých a těžkých aromat. Je součástí peruánského a toluánského balzámu.
Benzylsalicylát	Je organické rozpouštědlo s příjemnou vůní, sloužící hlavně jako fixativum pro různé vonné látky. Má antipyretický, analgetický účinek, a proto může být přítomen i v některých léčivech. Slouží také jako organický sluneční filtr, chránící před ultrafialovým zářením.
Cinnamal	Běžná aromatická látka, vyskytuje se v mnoha éterických rostlinných olejích (levandulový, hyacintový aj.). Ve velké míře je obsažen v kůře skořicovníku. Používá se jako koření v potravinářském průmyslu, pro zlepšení nebo zvýraznění chuti v zubních pastách a ústních vodách aj.
Cinnamylalkohol	Jedná se o pevnou látku s velmi příjemnou květinovou až skořicovou vůní a hořkou chutí. V přírodě se vyskytuje v mnoha rostlinách, ve skořicové silici, v listech a v kůře. Je součástí fialkové a hyacintové vůně. Používá se v kosmetickém průmyslu jako aromatická látka.
Citral	Citral je nenasycený terpenický aldehyd. Olejovitá tekutina nažloutlé barvy se vyrábí synteticky a vyskytuje se ve dvou izomerech. Má nahořklou chuť a příjemnou citrónovou vůni. Používá se i k syntéze retinolu (vitamin A). Je běžně přítomen v mnoha rostlinách, v citrusových olejích, v čajových směsích, v kosmetice a v insekticidních atraktantech.
Citronellol	Citronellol je bezbarvá až světle žlutá olejovitá tekutina se zajímavou nasládlou vůní květů, růže, kůže, stařinky a jemnou nuancí citrusů. Je to přírodní acyklický monoterpenoid přítomný ve více než 30 rostlinných olejích, v černém čaji a mnoha druzích ovoce. Je součástí insekticidních atraktantů a pesticidů.

Tabulka 4 Vlastnosti a použití PASs [4,20-24] – pokračování

Alergen	Vlastnosti a použití
Kumarin	Kumarin tvoří lesklé krystalky příjemné vůně připomínající tonkové boby, luční seno a vzdáleně vanilku. Snižuje srážlivost krve, a proto se používá jako deratizační jed pro hlodavce. Používá se v potravinářství, například při výrobě „mařinkového vína“, v kosmetickém průmyslu a v různých výrobcích na korekci zápachu.
Eugenol	Bezbarvá kapalina hnědnoucí na vzduchu a světle. Voní po hřebíčku a karafiátu. Má antiseptické, antibakteriální a bolest tišící účinky. Používá se prakticky ve všech kořenitých aromatech a je součástí mnoha insekticidů.
Farnesol	Bezbarvá tekutina se sladkou květinovou vůní patřící mezi alifatické terpeny. Používá se jako insekticid, má také bakteriostatické účinky, využívá se v přípravcích proti pocení nohou a přípravcích k ošetřování kůže u nemocných akné.
Geraniol	Geraniol je jednou z nejčastěji používaných aromatických látek, je přítomen ve většině rostlinných silic, poskytuje vůni růže a má antiseptický účinek.
Hexylcinnamal	Čirá žlutá tekutina s jemnou květinovou jasmínovou vůní. Používá se v kosmetickém průmyslu.
Hydroxycitronellal	Velmi silně aromatická syntetická látka. Je součástí vůně lípy nebo konvalinky, je přidávána ke všem vůním květů pro zesílení jejich aroma. Je obsažen v insekticidech, v osvěžovačích vzduchu a v čisticích prostředcích.
Isoeugenol	Bezbarvá až nažloutlá viskózní kapalina s něžným karafiátovým aroma. Vyskytuje se ve dvou izomerech v mnoha rostlinách a v éterických olejích. V potravinářském průmyslu se používá například v kořenících směsích.
α -isomethylionon	Synteticky vyrobená vonná látka květinového typu. V přírodě se nevyskytuje. Vyskytuje se v mnoha parfemovaných výrobcích.
Lilial	Syntetický aldehyd s květinovým aroma, který se v přírodě nevyskytuje. Je to bezbarvá nebo lehce nažloutlá, čirá, olejovitá tekutina. Lilial se nejčastěji používá v kosmetickém průmyslu pro výrobu mýdel a různých detergentů.
Limonen	Je bezbarvá kapalina se svěží citrusovou vůní, na vzduchu snadno oxiduje, čímž získává nepříjemnou až kmínovou vůni. V přírodě se vyskytuje v citrusech, v pepři, v australském tea tree oleji a v muškátovém oříšku.

Tabulka 4 Vlastnosti a použití PASs [4,20-24] – pokračování

Alergen	Vlastnosti a použití
Linalool	Syntetická bezbarvá kapalina s výrazným květinovým aroma, připomínajícím konvalinky. V přírodě se vyskytuje v mnoha silicích. Koncentrovaná vůně připomíná vůně květů citrusů nebo divoké růže. Používá se v kosmetických výrobcích, především v pěnách do koupele, v šamponech, ve sprejích na vlasy a v tekutých i pevných mýdlech.
Lylal	Bezbarvá, olejovitě viskózní tekutina s příjemnou, jemnou, sladce květinovou vůní lilií, konvalinek nebo cyklámenů. Toto aroma bylo vyvinuto v roce 1960 a vyznačuje se extrémně dlouhou dobou působení a difusibilitou. Přidává se jako vonná látka především do kosmetických výrobků.
Methylheptin karbonát	Synteticky vyrobená, aromatická, bezbarvá nebo lehce nažloutlá, čirá tekutina, která se v přírodě nevyskytuje. V koncentrovaném stavu připomíná vůni listů okurek. Může být přítomna v mnoha parfémovaných výrobcích.
Oakmoss extrakt	
Treemoss extrakt	

2.5 Použité metody – stanovení aromatických látek

Pro stanovení potenciálně alergenních aromatických látek v experimentální části této práce byla použita metoda SPME-GC-FID.

2.5.1 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je jednoduchá, účinná, levná a rychlá sorpčně/desorpční technika zakoncentrování analytu, která nevyžaduje rozpouštědla ani komplikované aparatury. Principem SPME je vystavit malé množství extrakční fáze nadbytku vzorku. Tím dojde k extrakci analytu ze vzorku pouze do dosažení rovnovážného stavu. Rovnováha se ustanovuje mezi koncentrací analytu ve vzorku, headspace prostorem nad vzorkem a polymerní vrstvou na křemenném vlákně, je tedy závislá na koncentraci analytu ve vzorku a na typu a tloušťce polymeru, který pokrývá křemenné vlákno. Množství sorbovaného analytu závisí také na distribuční konstantě, která zpravidla narůstá s rostoucí molekulovou hmotností a teplotou varu analytu [12,25,26].

Mikroextrakci tuhou fází můžeme rozdělit na [27]:

- DI-SPME („direct immerse“) – vlákno je ponořeno přímo do vzorku
- HS-SPME („headspace“) – vlákno je umístěno v prostoru nad vzorkem
- Membránově chráněná extrakce („membrane protected mode“) – extrakční fáze je od vzorku oddělena membránou

Účinná extrakce a následná desorpce z SPME vlákna závisí na molekulové hmotnosti, tvaru molekuly, velikosti fázového rozhraní, bodu varu a tenzích par molekuly, polaritě analytu a vlákna, funkční skupině v molekule analytu a typu detektoru. Použití SPME při

analýze potravin odstranilo nebo alespoň minimalizovalo nedostatky vyskytující se při použití tradičních metod přípravy vzorků. Například nižší spotřeba organických rozpouštědel, zkrácení doby přípravy vzorku, snížení potřebného množství vzorku a snadná možnost automatizace procesu extrakce [28].



Obrázek 1 SPME vlákno

2.5.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je analytická separační metoda, při které se jako mobilní fáze používá nosný plyn, nejčastěji dusík, vodík, helium nebo argon. Stacionární fázi může být kapalina nanesená v tenké vrstvě na pevný nosič nebo pevný sorbent. K separaci dochází vždy v plynném stavu [25].

Chromatografické kolony v plynové chromatografii se rozdělují na [25]:

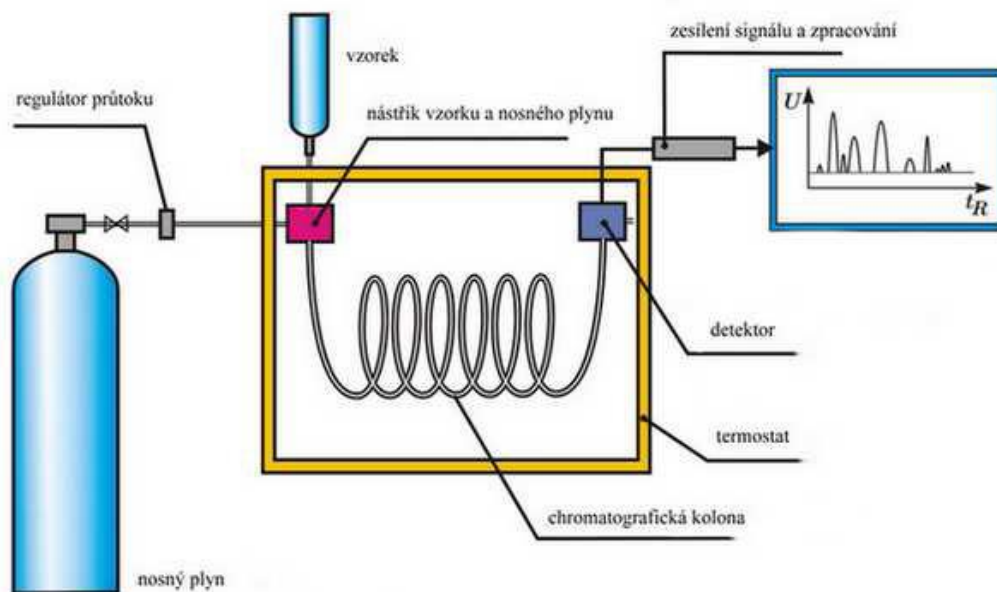
- náplňové kolony,
- kapilární kolony.

Kapilární kolony je dále možné rozdělit do tří skupin [25, 29, 30]:

- kolony s kapalinou zachycenou na vnitřních stěnách kapilární trubice (WCOT – Wall Coated Open Tubular),
- kolony s kapalinou zakotvenou na nosiči, který je zachycený na vnitřních stěnách kapiláry (SCOT – Support Coated Open Tubular),
- kolony s adsorbentem, který je zachycený na vnitřních stěnách kapilární trubice (PLOT – Porous Layer Open Tubular).

Používá se pro separaci, identifikaci a stanovení složitějších směsí plynů a těkavých látek a především organických sloučenin s bodem varu nižším než přibližně 400 °C. Výhodou této metody je rychlé a jednoduché provedení analýzy, účinné oddělení látek a použití malého množství vzorku [25,31].

Plynová chromatografie spočívá v nanesení vzorku do vyhřívaného bloku nástřikové komory, kde dochází k odpaření těkavých aromatických látek ve formě par a tyto páry jsou dále unášeny nosným plynem do kolony. S rostoucí teplotou dochází v koloně k separaci dílčích složek směsi plynu na základě rozdílné schopnosti adsorpce na stacionární fázi. Separované složky jsou při opuštění kolony detekovány detektorem. Signál z detektoru se dále vyhodnocuje, nejčastěji pomocí počítače, který zaznamenává intenzitu signálu v závislosti na čase. Takovýto záznam zobrazující jednotlivé analyty nejčastěji ve formě chromatografických píků se nazývá chromatogram. Z chromatogramu poté můžeme díky retenčním časům identifikovat a díky plochám píků kvantifikovat jednotlivé analyty [25,31].



Obrázek 2 Schéma plynového chromatografu

2.5.3 Detektory

Jako detektory pro stanovení aromatických látek je možné použít například olfaktometrický detektor, hmotnostní spektrometr a plamenově ionizační detektor.

2.5.3.1 Olfaktometrický detektor

Plynový chromatograf společně s olfaktometrickým detektorem (GC-O) je jedním ze základních nástrojů ke studiu aromaticky aktivních sloučenin. Využívá lidské hodnotitele k tomu, aby zjistili a ohodnotili vonné látky vystupující z GC. Na každé eluované sloučenině hodnotitel zkoumá, zda je aromaticky aktivní, časové trvání vonného účinku, popisuje kvalitu a intenzitu vůně [32-34].

Tato metoda je v analytické chemii stejně důležitá jako GC-MS, a to navzdory většímu šumu a zkreslení a vyšším nákladům. Vysoká citlivost GC-O pro aromatické látky často převyšuje citlivost GC-MS v důsledku důmyslného designu lidského čichového ústrojí. [35]

Používají se dva základní typy olfaktometrů, a to *statický* a *dynamický*. Statické olfaktometry mohou být tak jednoduché, jako je stlačování plastových lahví naplněných roztoky aromatických látek v rozpouštědle bez zápachu, obvykle ve vodě. Vzhledem ke své jednoduchosti, přenositelnosti a jednoduché standardizaci, je tato olfaktometrie stále nejčastěji používaná pro výzkum a spotřebitelské testy. Statické olfaktometry poskytují nárazovou odezvu aroma při vysoké vlhkosti (až 100 %), zatímco dynamické olfaktometry mají odezvu stálější a při nižší vlhkosti. Při delší expozici aromatických látek může docházet k adaptaci nebo snížení citlivosti smyslů (čichu). [35]

Při obou metodách je vyžadována určitá pečlivost a pracovitost ke zjištění přesného složení dané dávky, protože těkavost a rychlost průtoku mohou mít vliv na odpověď hodnotitele na danou dávku. Nicméně vynikajících výsledků bylo dosaženo s oběma typy olfaktometrů. [35]

2.5.3.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je velmi účinná separační a identifikační technika, která je široce používána k řešení analytických problémů. Při MS se vzorek ionizuje a vzniklé ionty separuje podle hodnoty podílu jejich hmotnostní a náboje m/z . [25,36]

Spojení GC-MS přispělo podstatnou měrou k rozvoji hmotnostní spektrometrie. Běžný hmotnostní spektrometr se skládá z hlavních částí: vstupu, iontového zdroje, separátoru, detektoru se zesilovačem a záznamovým zařízením a vakuového systému. Pro použití GC-MS je důležitý dělič umístěný na výstupu z kolony, který dělí proud nosného plynu tak, aby nedošlo k narušení vakua v MS, což by vedlo k řadě potíží, včetně poškození přístroje [36].

Výhodou techniky GC-MS je spojení vysoké separační schopnosti plynové chromatografie s identifikačními možnostmi hmotnostní spektrometrie. Získáváme tak dva druhy záznamů, a to chromatogram a hmotnostní spektra [36].

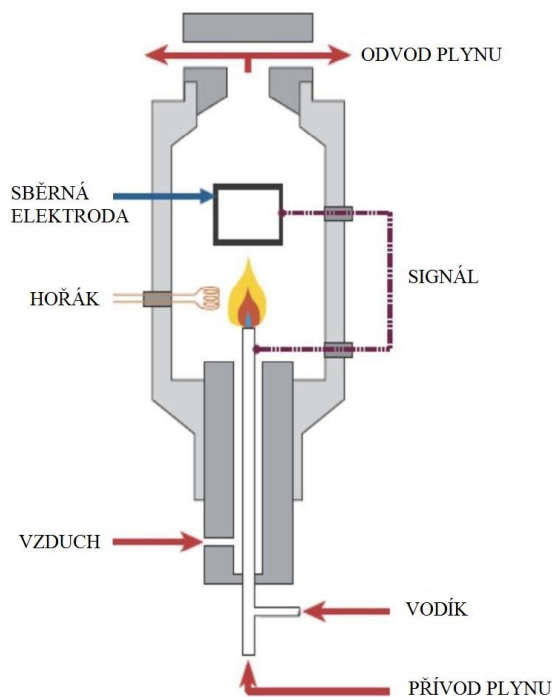
2.5.3.3 Plamenově ionizační detektor

Plamenově ionizační detektor je jeden z nejoblíbenějších detektorů, které se dnes používají pro stanovení organických sloučenin, obzvláště uhlovodíků. Je levnější a snadno použitelný [37].

Plamenově ionizační detektor je selektivní na sloučeniny obsahující C-H vazby. Minimální detekovatelné množství je 0,1-1 ng. Závislost plochy píku na hmotnosti analyzované složky je lineární v rozsahu asi 0,1 mg až 0,1 ng. [36].

Analyt je unášen nosným plynem a následně je spalován v plameni, který hoří mezi dvěma elektrodami. Jako anoda je zde využita kovová část hořáku a jako katoda slouží kovová síťka nebo trubička, umístěná těsně nad plamenem. Pokud do plamene přichází pouze nosný plyn, je množství nabitých částic vznikajících při hoření zanedbatelné. Molekuly organických sloučenin poskytují v plameni radikály, které následně přecházejí na ionty, které zvyšují vodivost plamene a detektorem tak probíhá proud úměrný koncentraci organické sloučeniny v nosném plynu [25].

Výhodou těchto detektorů je malý efektivní objem, výborná stabilita signálu a rychlá odezva. Nevýhodou pak nutnost použití zdrojů vodíku a vzduchu pro zajištění funkce detektoru [25].



Obrázek 3 Schéma plamenově ionizačního detektoru

2.6 Senzorická analýza

Senzorická analýza je metodika hodnocení potravin našimi smysly, včetně zpracování výsledků lidským centrálním nervovým systémem. Je důležité analýzu provádět za takových podmínek, aby bylo zajištěno objektivní, přesné a reprodukovatelné měření [38,39].

Osoby hodnotící dle senzorických požadavků se nazývají posuzovatelé nebo hodnotitelé a soubor těchto osob se nazývá komise. Konzument je hodnotitel bez zvláštního odborného vzdělání v senzorické analýze, ale jeho postoje a výsledky hodnocení se podobají výsledkům skutečných spotřebitelů [38].

Fyzikální a chemickou analýzou se stanoví pouze takové vlastnosti potravin, které odpovídají vnějším podnětům při senzorické analýze. Senzorickou analýzou, kdy používáme smyslové receptory, ale stanovíme vjemy místo podnětů. Tyto vjemy jsou zpracované v centrální nervové soustavě, takže výsledky nejsou přímo porovnatelné s výsledky fyzikální nebo chemické analýzy [38,40].

Základní a obecné zásady a pokyny pro správné provedení senzorické analýzy jsou dány normou ČSN ISO 6658 Senzorická analýza – Metodologie – Všeobecné pokyny [41].

2.6.1 Senzorická laboratoř

Uspořádání zkušebních místností je dáno normou ČSN ISO 8589 [42].

Zkušební místnosti musí být uspořádány tak, aby umožňovaly senzorické hodnocení za stálých, kontrolovaných podmínek s minimem rušivých vlivů vedoucí ke snížení vedlejších podnětů, které by mohly mít vliv na lidský úsudek, psychologické faktory a fyzikální podmínky [43-45].

Typická zkušební místnost zahrnuje [44,45]:

- Zkušební prostor, umožňující vykonávat činnost jednotlivě v kóji a ve skupinách
- Přípravný prostor
- Kancelář
- Toaletu
- Odpočívárnu
- Šatnu

Minimální požadavky na prostor pro senzorické posuzování zahrnují [44,45]:

- Zkušební prostor, umožňující vykonávat činnost jednotlivě v kóji a ve skupinách
- Přípravný prostor

Hodnotící místnost musí být čistá, prostorná, dobře osvětlená a větratelná a bez jakýchkoli pachů. Na stěnách místnosti by měly být světlé barvy, šedého nebo bílého odstínu, protože intenzivní zbarvení může působit rušivě při hodnocení barvy vzorku. Teplota by se měla pohybovat nejlépe mezi 18 až 23 °C a má být po celou dobu hodnocení stálá [44].

V místnosti pro hodnocení sedí každý posuzovatel v kóji, jejíž prostor je upraven tak, aby nedocházelo ke kontaktu s ostatními hodnotiteli, a zároveň aby se hodnotitel necítil při hodnocení nepříjemně, musí mít na pracovním stole dostatek prostoru pro hodnocení a vyplnění dotazníku [44].

2.6.2 Hodnotitelé

Aktivní účastníci senzorické analýzy se nazývají hodnotitelé nebo posuzovatelé (starší výraz panelisté). Hodnotitele dělíme podle toho, jak jsou proškoleni v oblasti senzorické analýzy na neškolené, krátce zaškolené, školené a experty (dlouhodobě školené s několikaletými zkušenostmi a technologickými a zbožíznaleckými znalostmi).[39,44]

Hodnotitel musí být schopen rozlišit tzv. základní chutě – sladkou, slanou, kyselou, hořkou, umami a kovovou a běžné vůně a projít řadou zkoušek, kterými se prokáže jeho fyzická i psychická způsobilost k hodnocení. Citlivost pro senzorickou analýzu je největší mezi 18 – 40 lety, ale hodnotitelům chybějí zkušenosti a schopnosti vyjadřování. Ještě do 60 let je možné hodnotit, protože i přes sníženou citlivost je kompenzována zkušenostmi [5,44].

U jednotlivých osob je citlivost k vnímání vůní odlišná a závisí na fyziologickém stavu daného organismu, psychologických podmínkách patologických změnách a dalších faktorech. Obecně jsou ženy jako hodnotitelé k vůním citlivější. Kuřáci vnímají některé vůně méně intenzivně (vůni hřebíčku, thiolů), jiné intenzivněji (např. banánovou) [4].

2.6.3 Hedonické a intenzitní hodnocení

Lidská psychika je uzpůsobena tak, že nejdříve hodnotí přijatelnost, příjemnost vjemu, což je hodnocení hedonické, které je poměrně jednoduché a nevyžaduje větší proškolení hodnotitelů [39].

Až poté na hedonické hodnocení navazuje intenzitní hodnocení vzorku, kdy si hodnotitel všímá intenzity vjemů. Tento typ hodnocení je podstatně obtížnější a vyžaduje víc pozornosti a zkušenosti [39].

2.6.4 Profilový test

Jemné rozdíly v charakteru chuti a vůně se často posuzují profilovými testy. To je metoda, kdy posuzovatel celkový vjem chuti nebo vůně rozdělí na dílčí vjemy a určuje se jejich intenzita za použití nejčastěji bodové nebo grafické stupnice [44].

Pro tuto metodu je potřebné vybrat ty dílčí vlastnosti, které mají být hodnoceny, tzv. deskriptory. Většinou je vybráno 2 až 6 nejdůležitějších deskriptorů pro daný vzorek. Výsledky profilových testů jsou nejčastěji prezentovány v podobě grafů (lineární, hvězdicové, pavučinové diagramy a další) [43,46].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie

3.1.1 Plyny

- Dusík 5.0 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem a kovovou membránou;
- Vodík 5.5 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem;
- Vzduch 5.0 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem pro kyslík.

3.1.2 Přístroje

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a kapilární kolonou DB- WAX (30 m x 0,32 mm x 0,5 μ m) s výstupem na PC
- Počítač PC, Intel Pentium Procesor
- Analytické digitální váhy HELAGO, GR-202-EC, Itálie
- Vodní lázeň

3.1.3 Pracovní pomůcky

- SPME vlákno CARTM/PDMS 85 μ m, SPME Supelco Fiber
- Mikropipeta Biohit-Proline (100 – 1000 μ l), špičky
- Vialky o objemu 4 ml s kaučuk-teflonovým septem a šroubovacím uzávěrem
- Běžné laboratorní sklo
- Parafilm Pechiney PLASTIC PACKAGING
- Nůž, nůžky

3.1.4 Chemikálie

Standardy

• α -Amylcinnamaldehyd	97 %	Sigma-Aldrich
• α -Amylcinnamyl alkohol	≥ 85 %	Fluka Analytical
• Anýzalkohol	98 %	Sigma-Aldrich
• Benzylalkohol	99 %	Alfa Aesar
• Benzylbenzoát	99 %	Alfa Aesar
• Cinnamaldehyd	≥ 93 %	SAFC Supply Solution
• Cinnamylalkohol	98 %	Alfa Aesar
• Citral, cis + trans	95 %	Alfa Aesar
• Citronellol	96 %	Alfa Aesar
• Kumarin	98 %	Alfa Aesar
• Eugenol	99 %	Alfa Aesar
• Farnesol	95 %	Sigma-Aldrich
• Geraniol	97 %	Alfa Aesar
• α -Hexylcinnamal	≥ 95 %	SAFC Supply Solution
• 7-Hydroxycitronellal	≥ 95 %	Fluka Analytical
• Isoeugenol	98 %	Alfa Aesar
• α -Isomethylionon	≥ 85 %	Fluka Analytical
• Lilial	≥ 95 %	Sigma-Aldrich
• Limonen	97 %	Alfa Aesar

- | | | |
|---------------------|--------|---------------|
| • Linalool | 97 % | Alfa Aesar |
| • Lyrar | ≥ 97 % | Sigma-Aldrich |
| • Methyl 2-oktynoát | 99 % | Sigma-Aldrich |

Rozpouštědlo

- | | | |
|----------|------|---------------|
| • Heptan | 99 % | Sigma-Aldrich |
|----------|------|---------------|

3.2 Analyzované vzorky

Celkem bylo analyzováno osm náhodně vybraných vzorků želé cukrovinek českých i zahraničních výrobců zakoupených v běžné tržní síti. Vzorky byly skladovány při laboratorní teplotě až do doby analýzy.

- Albert Kyselé rybičky
- Haribo Chamallows Šmoulové
- Jojo Dinosauři
- Haribo Balla Balla
- Haribo Chamallows Speckies
- Multicolour belts
- Trolli Apfelringe
- Jojo zmrzlinky

Bližší informace o složení vzorků jsou uvedeny v následujících ***Tabulkách 5 až 13.***

Tabulka 5 Údaje na obalu vzorku *Albert Kyselé rybičky*

Albert Kyselé rybičky	
	Želé s ovocnými příchutěmi
Vyrobeno	Česká republika
Prodávající	AHOLD Czech Republic, a.s.
Hmotnost	100 g
Složení	Glukosový sirup, cukr, želatina, regulátory kyselosti (kyselina citronová, kyselina jablečná), aroma (malina, ananas, pomeranč) , barviva (košenila, měďnaté komplexy chlorofylů, paprikový extrakt), rostlinné oleje (bambucké máslo, kokosový olej).



Obrázek 4 Přední a zadní strana vzorku *Albert Kyselé rybičky*

Tabulka 6 Údaje na obalu vzorku Haribo Chamallows Šmoulové

Haribo Šmoulové	
	Pěnové cukrovinky
Vyrobeno	v Belgii
Prodávající	Haribo CZ s.r.o
Hmotnost	100 g
Složení	Glukosový sirup; cukr; dextróza; voda; zvlhčující látka: sorbitol; želatina; aroma ; barviva: patentní modř V, kyselina karmínová, kurkumin.



Obrázek 5 Přední a zadní strana vzorku Haribo Šmoulové

Tabulka 7 Údaje na obalu vzorku Jojo Dinosaurů

Jojo Dinosaurů	
	Želé s ovocnými příchutěmi
Vyrobeno	v ČR
Výrobce	Nestlé Česko s.r.o
Hmotnost	90 g
Složení	Glukosový sirup, cukr, želatina, jablečná šťáva (3 %), kyseliny (vinná, jablečná, citronová), aromata (malinové ananasové, pomerančové, citronové) , lešticí směs (rostlinný olej, lešticí látka: karnaubský vosk), rostlinné koncentráty a extrakty (černá mrkev, špenát, kopřiva), přírodní barvivo (beta-karotén), regulátor kyselosti (askorbát sodný). Může obsahovat stopy mléka.



Obrázek 6 Přední strana vzorku Jojo Dinosaurů

Tabulka 8 Údaje na obalu vzorku Haribo Balla Balla

Haribo Balla Balla	
	Karamely s ovocnou příchutí
Vyrobeno	Španělsko
Výrobce	Haribo ESPAÑA S.A.U, Ctra.
Hmotnost	100 g
Složení	Cukr, glukoso-fruktosový sirup, pšeničná mouka, pšeničný škrob, rostlinný tuk, dextróza, emulgátor (mono- a diglyceridy mastných kyselin), želatina, kyselina citrónová, ovocné a rostlinné koncentráty (ředkev, černý rybíz, jablko, mrkev, ibišek), aroma , barviva (kurkumin, měďnaté komplexy chlorofylů, karamelizovaný cukerný sirup) lešticí látky (včelí vosk bílý a žlutý, karnaubský vosk.



Obrázek 7 Přední a zadní strana vzorku Haribo Balla Balla

Tabulka 9 Údaje na obalu vzorku Haribo Chamallows speckies

Haribo Chamallows speckies	
	Pěnové cukrovinky
Vyrobeno	Belgie
Výrobce	Haribo CZ s.r.o
Hmotnost	100 g
Složení	Glukosový sirup; cukr; dextróza; voda; zvlhčující látka: sorbitol; želatina; aroma ; barvivo: kyselina karmínová.



Obrázek 8 Přední strana vzorku Haribo Chamallows

Tabulka 10 Údaje na obalu vzorku Multicolour belts

Multicolour belts	
	Želé s ovocnými příchutěmi
Vyrobeno	v Nizozemí
Prodávající	Tesco Stores ČR a.s.
Hmotnost	75 g
Složení	Cukr, glukoso-fruktosový sirup, pšeničná mouka, kyseliny (kyselina jablečná, kyselina citronová), dextróza, palmový olej, aromata , ovocné, zeleninové a rostlinné koncentráty (ze světlice barvířské, mrkvový, ibiškový, z řasy Spirulina, jablečný, rajčatový, ředkvičkový, dýňový), antioxidanty (extrakt s vysokým obsahem tokoferolů, kyselina L-askorbová).



Obrázek 9 Přední a zadní strana vzorku Multicolour belts

Tabulka 11 Údaje na obalu vzorku Trolli Apfelringe

Trolli Apfelringe	
	Nečokoládová cukrovinka, želé s vitaminy
Vyrobeno	v Německu
Výrobce	Trolli GmbH
Hmotnost	200 g
Složení	Glukosový sirup; cukr; 12 % jablečná šťáva z koncentrát jablečné šťávy; vepřová želatina; kyseliny: kyselina citronová, kyselina mléčná; zvlhčující látka: sorbitol; potravinová barviva (světlice barvířská, spirulina); aroma ; niacin; vitamin E; pantothenová kyselina; vitamin B6; kyselina folinová; biotin; vitamin B12.



Obrázek 10 Přední a zadní strana vzorku Trolli Apfelringe

Tabulka 12 Údaje na obalu vzorku Jojo zmrzlinky

Jojo zmrzlinky	
	Želé s příchutí ovoce, zmrzliny a oplatky
Vyrobeno	v ČR
Výrobce	Nestlé Česko s.r.o (závod SFINX HOLEŠOV)
Hmotnost	80 g
Složení	Cukr, glukosový sirup, pitná voda, želatina, kyselina (kyselina citronová), aromata (oplatka, zmrzlina, jahoda) , jedlá sůl, lešticí směs (rostlinné tuky: palmojádrový, kokosový; lešticí látka: karnaubský vosk), karamelizovaný cukrový sirup (cukr, pitná voda), koncentrát šťávy z černé mrkve.



Obrázek 11 Přední a zadní strana vzorku Jojo zmrzlinky

3.3 Metoda SPME-GC-FID

Pomocí metody mikroextrakce pevnou fází ve spojení s plynovou chromatografií s FID detekcí (SPME-GC-FID) byly identifikovány a kvantifikovány aromatické potenciálně alergenní látky ve vzorcích želé bonbonů.

Vialka s naváženým vzorkem byla umístěna do vodní lázně vytemperované na 40 °C na 15 minut, aby byla dosažena rovnováha mezi vzorkem a HS prostorem. Poté bylo do headspace prostoru na dobu 15 minut vsunuto SPME vlákno, přičemž došlo k extrakci těkavých látek. Po ukončení extrakce bylo vlákno zasunuto zpět do ocelového obalu a přeneseno do injektoru plynového chromatografu. Zde došlo k desorpci aromatických látek.

3.3.1 Příprava vzorků pro stanovení aromatických látek

Z balíčků byly vybrány jednotlivé vzorky bonbonů, nakrájeny na malé kousky o velikosti cca 2 – 4 mm. Do vialek (4 ml) byl navážen vždy přibližně 1 g vzorku. Vzorek byl nanesen na dno vialky, aby nedošlo k pozdějšímu kontaktu s SPME vláknem. Následně byla vialka uzavřena vzduchotěsným teflon-kaučukovým septem a víčko obaleno parafinovým filmem, aby nedocházelo k úniku aromatických látek.

3.3.2 Podmínky SPME-GC-FID analýzy

- Hmotnost vzorku: 1,00 g
- Teplota vodní lázně: 40 °C
- Temperování vialky se vzorkem: 30 minut ve vodní lázni
- Doba extrakce: 15 minut
- Desorpce: přenesení vlákna do GC a ponechání po dobu 15 minut
- Teplota desorpce: 250 °C
- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie)
- Teplota injektoru: 250 °C
- Teplotní program: 42 °C, 1 minuta, vzestupný gradient 5 °C za minutu na 200 °C s výdrží 7 minut
- Nosný plyn: dusík N₂ – průtok 0,9 ml.min⁻¹
- Kolona: kapilární DB – WAX o rozměrech 30 m x 0,32 mm x 0,5 μm
- Detektor: plamenově ionizační (FID), 220 °C, průtok vodíku 35 ml.min⁻¹, průtok vzduchu 350 ml.min⁻¹, make-up dusíku 30 ml.min⁻¹
- Celková doba analýzy: 55 minut

3.3.3 Vyhodnocení výsledků SPME-GC-FID analýzy

Extrahované aromatické látky byly identifikovány a kvantifikovány pomocí standardů. Kvalitativní stanovení bylo založeno na porovnání retenčních časů vzorků se standardy. Pro kvantifikaci AAL obsažených ve vzorku byla zvolena metoda absolutní kalibrace. Tato metoda srovnává odpovídající plochy píku analyzovaného vzorku a standardu o známých množstvích a za stejných podmínek.

Koncentrace aromatických látek byla vypočtena pomocí vztahu:

$$c_i = \frac{A_i}{A_s} \cdot c_s \quad (1)$$

kde c je koncentrace v μg.ml⁻¹ (resp. μg.g⁻¹) a A příslušná plocha píku. Index i označuje vzorek a index s označuje standard.

- Platí: $c = \mu\text{g/ml} \approx \mu\text{g/g}$ vzorku

Každý vzorek byl proměřen třikrát ($n=3$). Výsledky byly zpracovány pomocí Microsoft Office Excel 2010 a jsou uvedeny ve formě průměr $\pm$ směrodatná odchylka [29,31]. Výsledky jsou vyjádřeny v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku.

3.4 Senzorické hodnocení

Senzorické hodnocení probíhalo ve specializované senzorické laboratoři vybavené v souladu s normou ČSN ISO 8589. Hodnotitelé byli vybráni z řad studentů fakulty chemické („běžní spotřebitelé“), před hodnocením byli řádně proškoleni jak vyplnit formulář (*Příloha I*). Hodnocení se účastnilo 10 hodnotitelů.

3.4.1 Příprava vzorků pro senzorické hodnocení

Vzorky byly hodnotitelům předkládány po otevření z plastových obalů ve skleněných kádinkách (vždy po dvou kusech) bez jakýchkoliv úprav.

3.4.2 Použité metody

Intenzita a příjemnost celkové chuti a vůně byla hodnocena podle sedmibodových kategorových stupnic. Použitá intenzitní stupnice: 1 neznatelná $\rightarrow$ 7 velmi silná, použitá hédonická stupnice: 1 vynikající $\rightarrow$ 7 nepřijatelná.

Dále byla pomocí profilového testu hodnocena intenzita 5 vybraných deskriptorů vůně: ovocná, sladká, kyselá, jiná-příjemná a jiná-nepříjemná pomocí uvedené intenzitní stupnice; a 7 vybraných deskriptorů chuti: charakteristická, ovocná, sladká, kyselá, umělá, jiná-příjemná a jiná-nepříjemná pomocí uvedené intenzitní stupnice.

Na závěr bylo hodnoceno i časové dozívání chuti (ČSN EN ISO 5492), za tímto účelem hodnotitelé hodnotili intenzitu příjemné a nepříjemné chuti v určitých časových intervalech (po 30 s, po 1 min., po 2 min. a po 3 min.) a na závěr měli kompletně popsat pocit v ústech po 3 min.

Jako neutralizátor chuti byla podávána pitná voda.

Použitý hodnotitelský formulář je uveden v *Příloze I*.

3.4.3 Vyhodnocení výsledků senzorické analýzy

Každý hodnotitel odevzdal vyplněný papírový formulář, ze kterého byly výsledky přepsány do počítače a zpracovány pomocí Microsoft Office Excel 2010 a jsou prezentovány jako medián hodnocení všech hodnotitelů. Celkový počet hodnotitelů byl 10 ($n=10$).

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Stanovení aromatických látek pomocí SPME-GC-FID

Dílčím cílem této práce byla identifikace a kvantifikace těkavých aromatických látek. Pozornost je zaměřena na stanovení konkrétních 24 nejvýznamnějších, legislativně ošetřených, potenciálně alergenních vonných látek (viz **Tabulka 3**), které jsou přidávány do potravin v podobě aromat pro zlepšení jejich chutnosti a zvýšení atraktivnosti výrobku. Pro jejich stanovení byla použita metoda SPME-GC-FID. Aromatické potenciálně alergenní látky byly izolovány metodou SPME a následně detekovány pomocí GC-FID. Podmínky analýzy jsou uvedeny v **kapitole 3.3.2**.

Přehled standardů použitých k identifikaci a kvantifikaci s jejich koncentracemi, retenčními časy a plochami píků je uveden v **Tabulce 13**. Čísla 1, 2, 3 u některých látek znamenají počet detekovaných izomerů [9].

Tabulka 13 Retenční časy a koncentrace standardů PASs

Název PASs	c [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]	Rt [min]	Plocha píku [mV.s]
Limonen	168,00	14,76	6 049 573
Amycinnamylalkohol	952,00	21,139	7 143 936
Linalool	170,00	23,5	6 151 153
Methyl oktynoát	92,40	26,129	3 534 378
Citral 1	178,60	27,04	1 690 194
Citral 2	178,60	28,129	2 230 418
Citronellol	256,50	28,61	6 352 696
Geraniol	177,80	30,399	4 920 126
Isomethylionon	465,00	30,85	10 541 200
Benzylalkohol	52,20	31,29	25 064 980
Hydroxycitron	276,00	32,409	5 170 967
Lilial	110,00	34,669	2 859 308
Cinnamaldehyd	104,80	34,779	3 707 813
Eugenol	212,00	36,939	3 770 874
Isoeugenol 1	216,00	38,7	528 502
Amylcinnamaldehyd	2 425,00	38,869	8 438 639
Anýzalkohol	111,30	39,29	3 365 509
Cinnamylakohol	104,00	39,409	1 936 041
Farnesol 1	2 661,00	39,709	381 995
Farnesol 2	2 661,00	39,97	925 180

Tabulka 13 Retenční časy a koncentrace standardů PASs – pokračování

Název PASs	c [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Rt [min]	Plocha píku
Farnesol 3	2 661,00	40,669	783 187
Isoeugenol 2	216,00	40,88	3 186 074
Hexylcinnamal	2 859,00	41,25	2 860 416
Lylal 1	1 492,50	44,279	505 366
Kumarin	14,00	44,65	175 213
Lylal 2	1 492,50	44,75	1 716 235
Benzylbenzoát	1 120,00	51,29	1 175 072

4.2 Identifikace a kvantifikace aromatických látek v reálných vzorcích cukrovinek

Metoda SPME-GC-FID byla použita pro měření obsahu vybraných PASs v náhodně vybraných vzorcích želé cukrovinek s ovocnou příchutí (kapitola 3.2). Byly vybrány takové výrobky, u kterých lze, podle informací na obalu, předpokládat, že byly aromatizovány. Sledované látky byly z chromatogramů reálných vzorků identifikovány na základě retenčních časů standardů (**Tabulka 13**), kvantifikovány na základě porovnání ploch píků a porovnány s případným záznamem na obalu výrobku. Výsledky jsou shrnuty v **Tabulce 14**.

Chromatogramy identifikovaných alergenů v reálných vzorcích jsou uvedeny v **Přílohách A až H**.

Jak již bylo uvedeno výše, potravinářská legislativa zatím použití vonných alergenů nelimituje. Přídavek vonných látek je na obalu cukrovinek většinou shrnut pod pojmem „aroma“ příp. konkrétněji „jahodové, malinové, ovocné aj. aroma“. Pro jakési hrubé přiblížení a porovnání byla v této práci zvolena limitní koncentrace stanovená pro nesmývatelné kosmetické výrobky ($10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Z našich výsledků je patrné, že obsah některých vonných alergenů v potravinách je poměrně vysoký. Ale vzhledem k tomu, že o možných účincích sledovaných alergenů na lidský organismus po konzumaci je známo jen velmi málo, i při překročení uvedené koncentrace se lze pouze dohadovat o jejich negativním působení. Nicméně není vyloučeno, že v budoucnu budou tyto účinky potvrzeny a podobné limity budou zavedeny i v potravinářské legislativě.

Tabulka 14 Koncentrace PASs [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] v reálných vzorcích cukrovinek

	Albert Kyselé rybičky	Haribo Balla Balla	Haribo Šmoulové	Jojo Dinosauri	Haribo Chamallows	Multicolour Belts	Jojo zmrzlinky	Trolli Apfelringe
Limonen	nd	61,66±14,40	nd	4 483,78 ±314,17	2,99±1,55	16,15±0,81	20,20 ±1,09	nd
Amylcinnamyl alkohol	10,51±2,01	1 237,25 ±87,95	nd	177,48±3,73	nd	nd	nd	nd
Linalool	38,14±11,04	166,35±9,36	7,14±3,02	85,56±22,19	5,31±1,33	143,10 ±62,29	17,51±0,02	9,06±0,82
Methyl oktynoát	nd	nd	1,51±0,20	nd	1,56±0,17	3,15±2,36	nd	nd
Citral 2	11,90±5,72	436,49±1,38	3,25±0,40	207,26±254,52	8,36±6,86	114,78 ±37,53	nd	nd
Isometylionone	5,02±1,24	14,40±0,33	nd	nd	2,92±2,29	nd	nd	nd
Benzylalkohol	3,29±0,38	nd	0,33±0,11	nd	nd	1,82±2,25	0,09±0,02	0,04±0,01
Hydroxycitron	nd	nd	1,04±0,28	nd	nd	0,78±0,20	nd	nd
Lilial	nd	nd	1,55±0,81	nd	0,81±0,22	nd	nd	nd
Cinnamal	nd	nd	nd	nd	1,78±1,01	nd	nd	nd
Eugenol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,61±1,92
Amylcinnamal	nd	nd	15,05 ±10,22	nd	5,05±1,42	nd	nd	nd

nd – nebylo detekováno

- **Albert Kyselé rybičky**

Ve vzorku Albert Kyselé rybičky bylo identifikováno pět sledovaných látek, a to amylcinnamyl alkohol, linalool, citral 2, isomethylionon a benzylalkohol (**Tabulka 14**). Z toho zvolené limitní hodnotě $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ nevyhovují linalool a citral 2 (**Grafy 4,6**) a jsou tedy potenciálně škodlivé pro lidský organismus, převážně pro citlivé jedince. V porovnání s ostatními vzorky obsahují Kyselé rybičky vysoké množství amylcinnamyl alkoholu, isomethyliononu a benzylalkoholu (**Grafy 3,8,9**). Na obalu jsou tyto aromatické látky shrnuty označením „aroma“, což zahrnuje aroma malinové, ananasové a pomerančové.

- **Haribo Balla Balla**

Vzorek Haribo Balla Balla obsahoval pět PASs, které byly na obalu označeny pouze jako „aroma“. Byly to limonen, amylcinnamyl alkohol, linalool, citral 2 a isomethylionon (**Tabulka 14**). Všechny látky byly v nadlimitním množství, a tedy potencionálně alergenní. Vzorek obsahoval v porovnání s ostatními analyzovanými cukrovinkami vysoké množství amylcinnamyl alkoholu, linaloolu a citralu 2 a nízká množství limonenu a isomethyliononu (**Grafy 2, 3, 4, 6, 7**).

- **Haribo Šmoulové**

Ve vzorku Haribo Šmoulové bylo identifikováno sedm aromatických látek, jmenovitě linalool, methyloktynoát, citral 2, benzylalkohol, hydroxycitronellal, lilial a amylcinnamal (**Tabulka 14**). Kromě amylcinnamalu vyhovují všechny tyto PASs zvolenému limitnímu množství (**Grafy 4,5,6,8,9,10,13**).

- **Jojo Dinosauři**

Vzorek Jojo Dinosauři obsahoval limonen, amylcinnamyl alkohol, linalool a citral 2 (**Tabulka 14**). Všechny tyto identifikované látky byly v nadměrném množství nevyhovujícím limitní hodnotě $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Ve vzorku bylo nejvíce limonenu v porovnání s ostatními vzorky cukrovinek i v porovnání s ostatními identifikovanými PASs (**Grafy 2,3,4,6**).

- **Haribo Chamallows**

Ve vzorku Haribo Chamallows bylo stanoveno celkově osm aromatických látek (**Tabulka 14**). Všechny identifikované látky – limonen, linalool, methyloktynoát, citral 2, isomethylionon, lilial, cinnamaldehyd, amylcinnamal (**Grafy 2,4,5,6,7,10,11,13**) vyhovují zvolené limitní hodnotě $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

- **Multicolour Belts**

Vzorek Multicolour Belts obsahoval limonen, linalool, methyloktynoát, citral 2, benzylalkohol a hydroxycitronellal (**Tabulka 14**). V nadlimitním množství PASs, tedy obsah látek vyšší než $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, byly limonen, linalool a citral 2. I přesto, že obsah methyloktynoátu vyhovuje námi zvolené limitní hodnotě, mezi vybranými vzorky je toto množství nejvyšší (**Graf 5**). Porovnání jednotlivých komponent je zobrazeno v **Grafech 2,4,5,6,8,9**.

- **Jojo zmrzlinky**

Ve vzorku Jojo zmrzlinky byly identifikovány tři potenciálně alergenní látky, a to limonen, linalool a benzylalkohol (**Tabulka 14**). Koncentrace limonenu a linaloolu nevyhovuje limitě $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (**Grafy 2,4,8**).

- **Trolli Apfelringe**

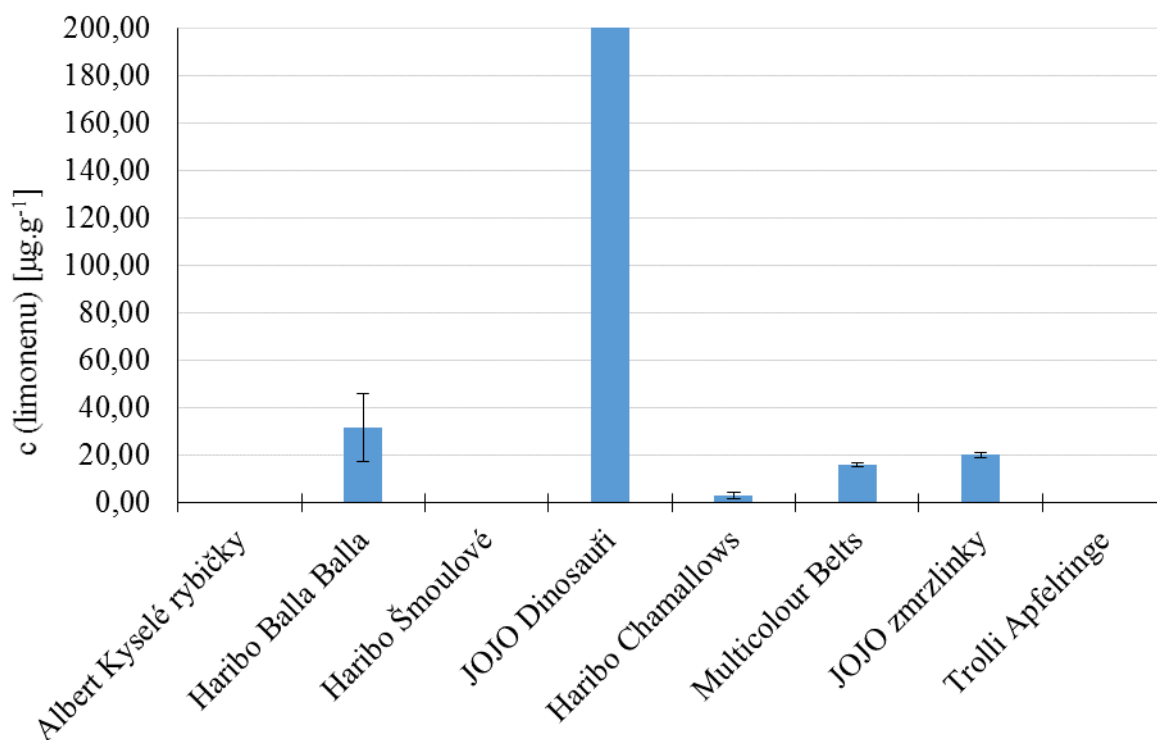
Vzorek Trolli Apfelringe obsahoval tři PASs (*Tabulka 14*), a to linalool, benzylalkohol a eugenol, přičemž koncentrace všech těchto látek je nižší než $10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a vyhovuje tedy normě (*Grafy 3,8,11*).

Potenciálně alergenní látky byly stanoveny v různých druzích želatinových bonbónů pocházejících od různých výrobců. Na obale zmíněných produktů byly kromě termínů „aroma“ také mnohdy uvedeny koncentráty (ovocné, rostlinné) a extrakty, které také do jisté míry přispívají danému flavouru, i když jsou přidány za účelem zlepšení barvy výrobku. Alergenní vonné látky se ve většině případů vyskytují v rostlinách. Přítomnost ovocných koncentrátů a extraktů v želatinových bonbónech proto nevylučuje přítomnost vonných alergenů v těchto produktech. Téměř ve všech vzorcích byly identifikovány vonné alergeny jako je limonen, linalool, amylcinnamylalkohol, methyl 2- oktynoát, citral 2, isomethylionon a benzylalkohol. Linalool se jako jediná sloučenina vyskytoval ve všech měřených vzorcích cukrovinek.

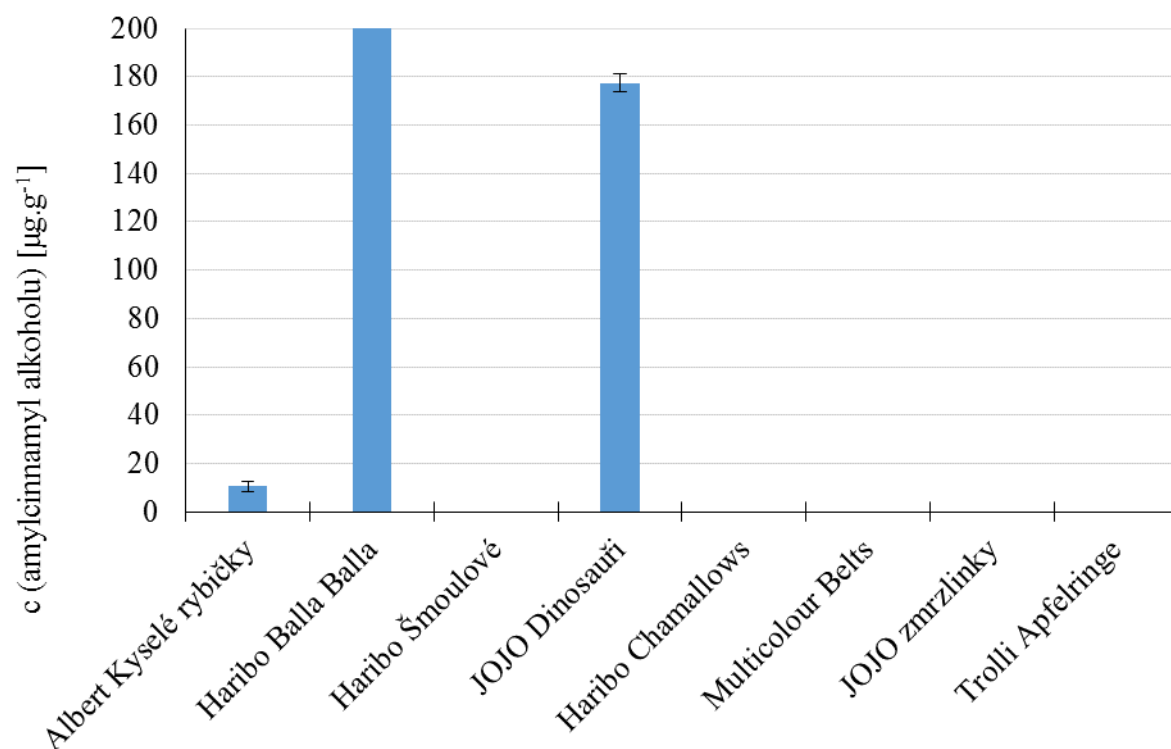
Relativně vysoké koncentrace sledovaných PASs byly stanoveny ve vzorcích Haribo Balla Balla a Jojo Dinosauri. Nejvyšší koncentrace byla stanovena u limonenu ve vzorku Jojo Dinosauri.

4.3 Srovnání obsahu identifikovaných sloučenin ve vzorcích

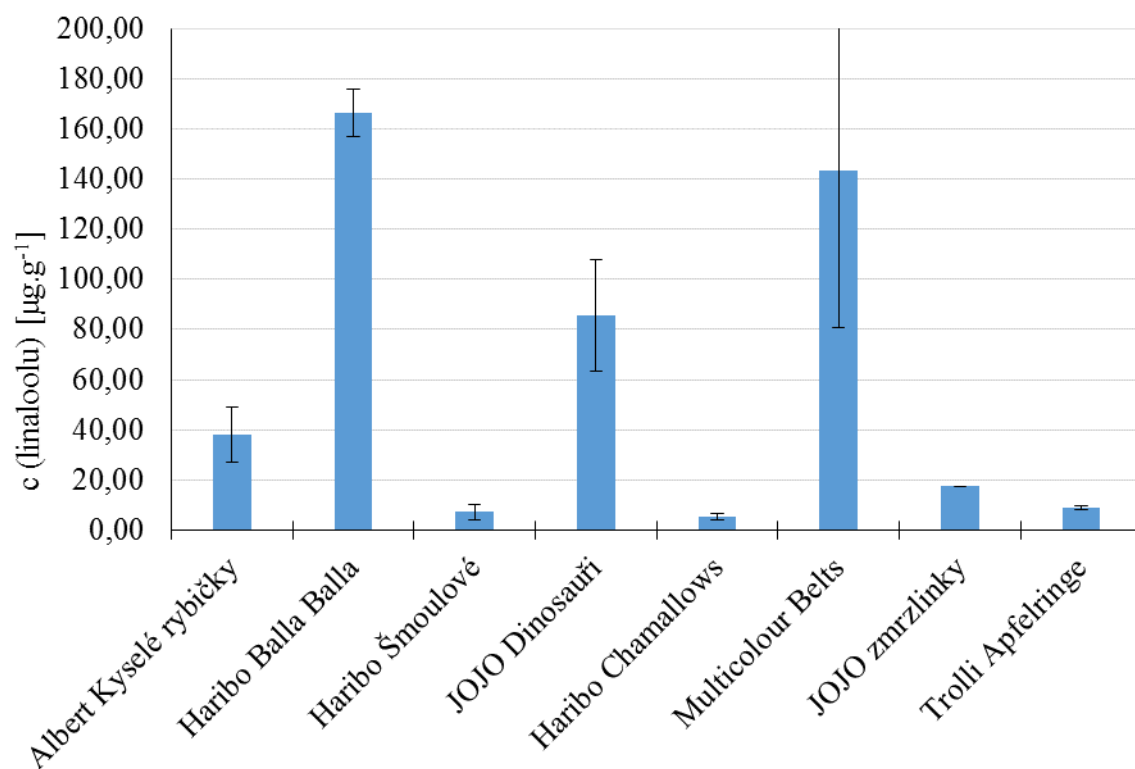
Pro lepší názornost je v *Grafech 2 až 9* uvedeno porovnání obsahu jednotlivých PASs vždy ve všech vzorcích.



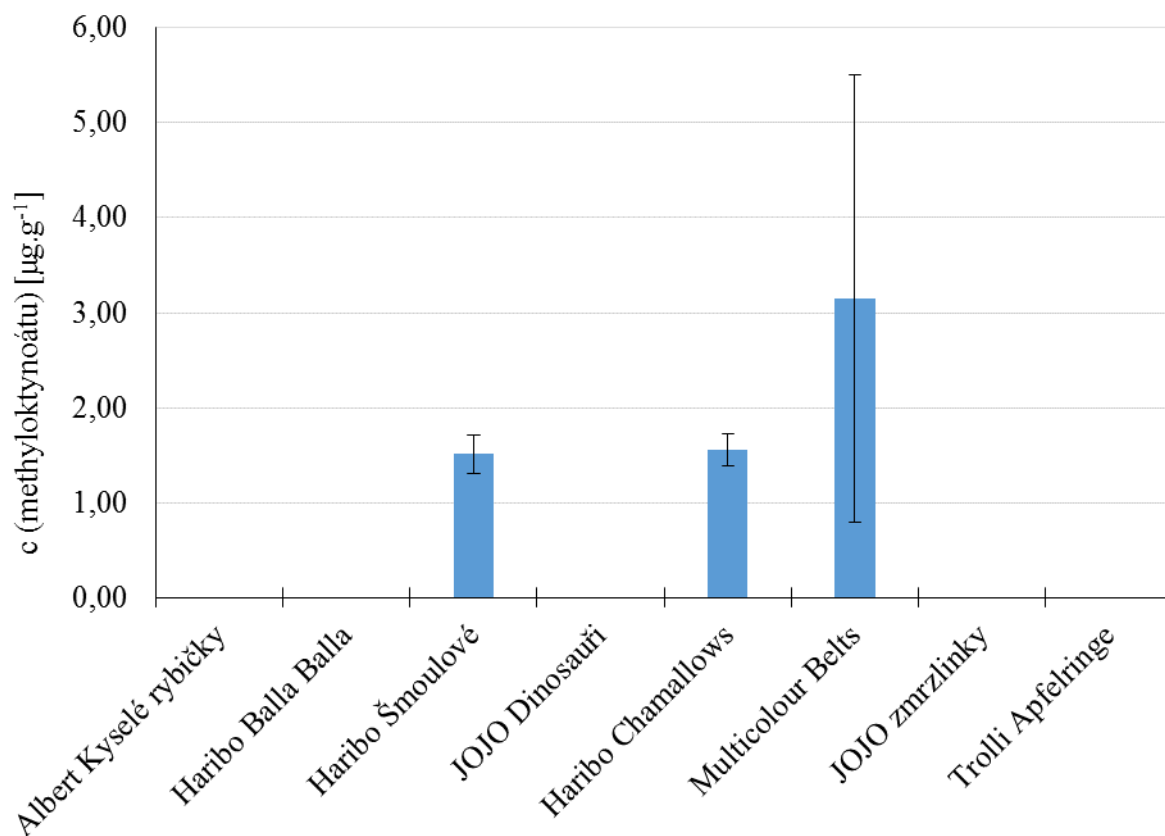
Graf 2 Porovnání obsahu limonenu v jednotlivých vzorcích



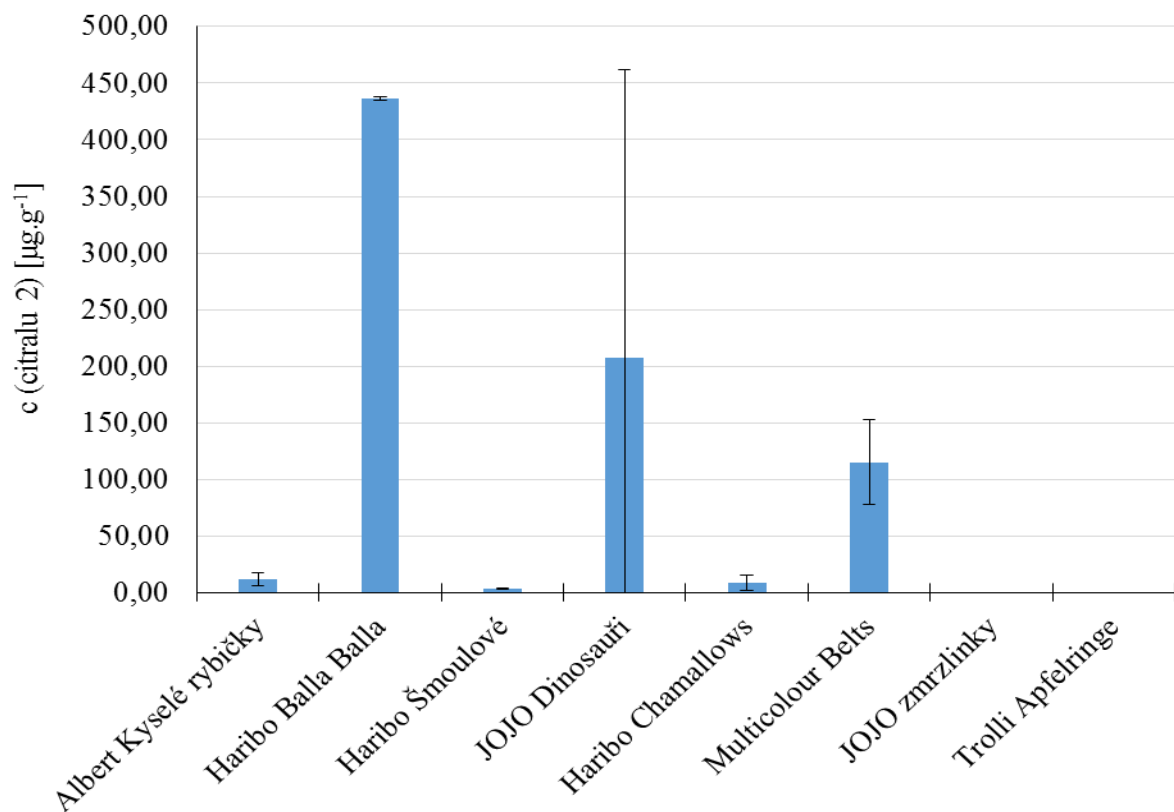
Graf 3 Porovnání obsahu amylcinnamyl alkoholu v jednotlivých vzorcích



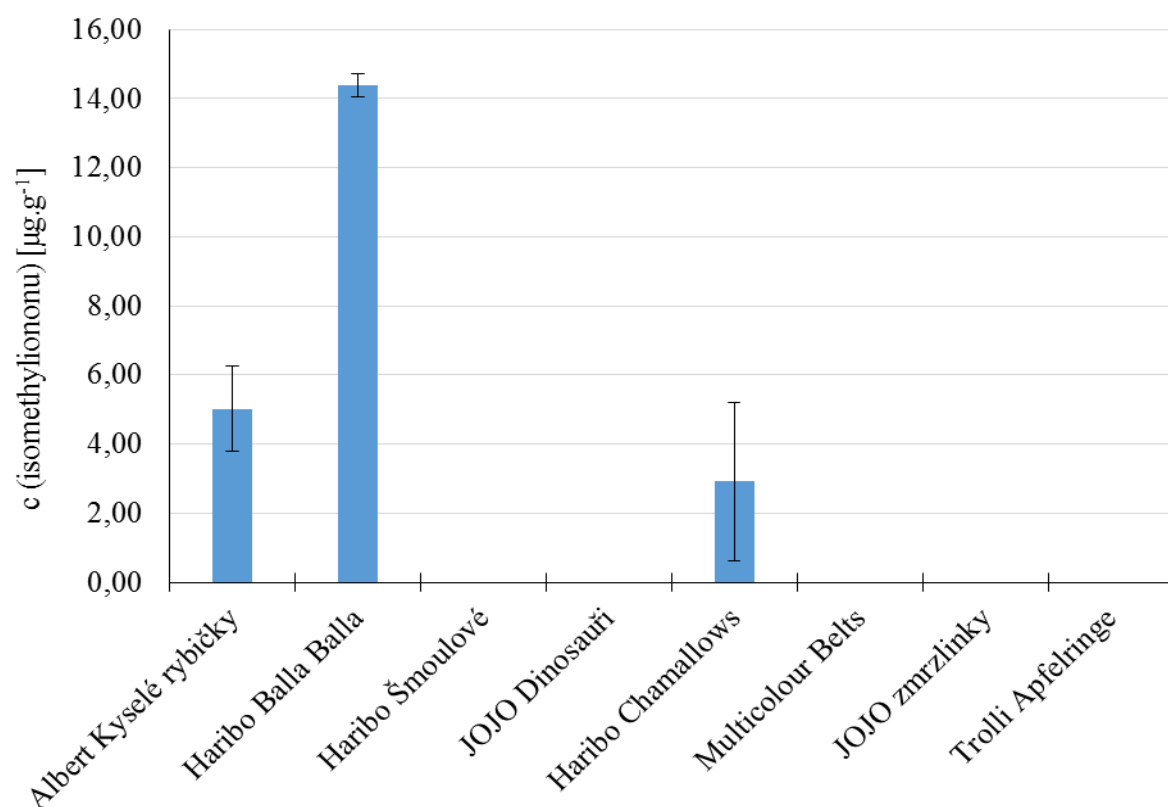
Graf 4 Porovnání obsahu linaloolu v jednotlivých vzorcích



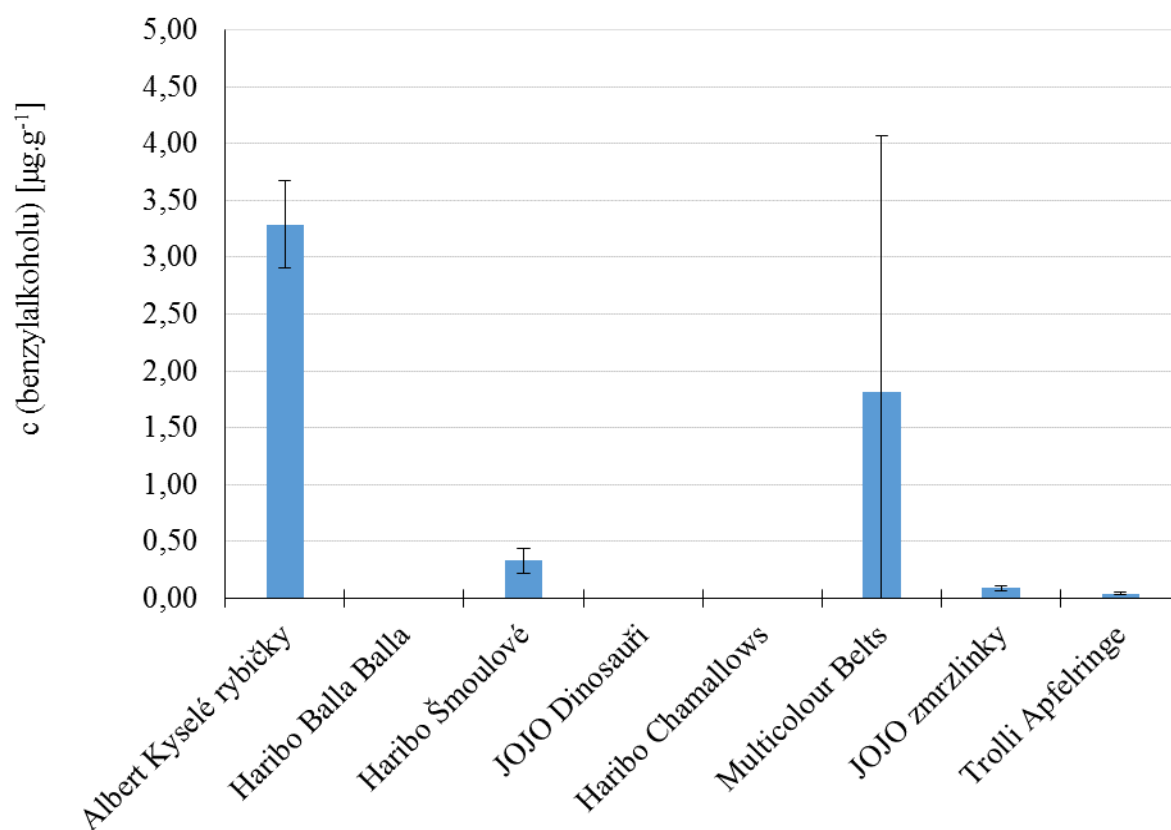
Graf 5 Porovnání obsahu methyloktynoátu v jednotlivých vzorcích



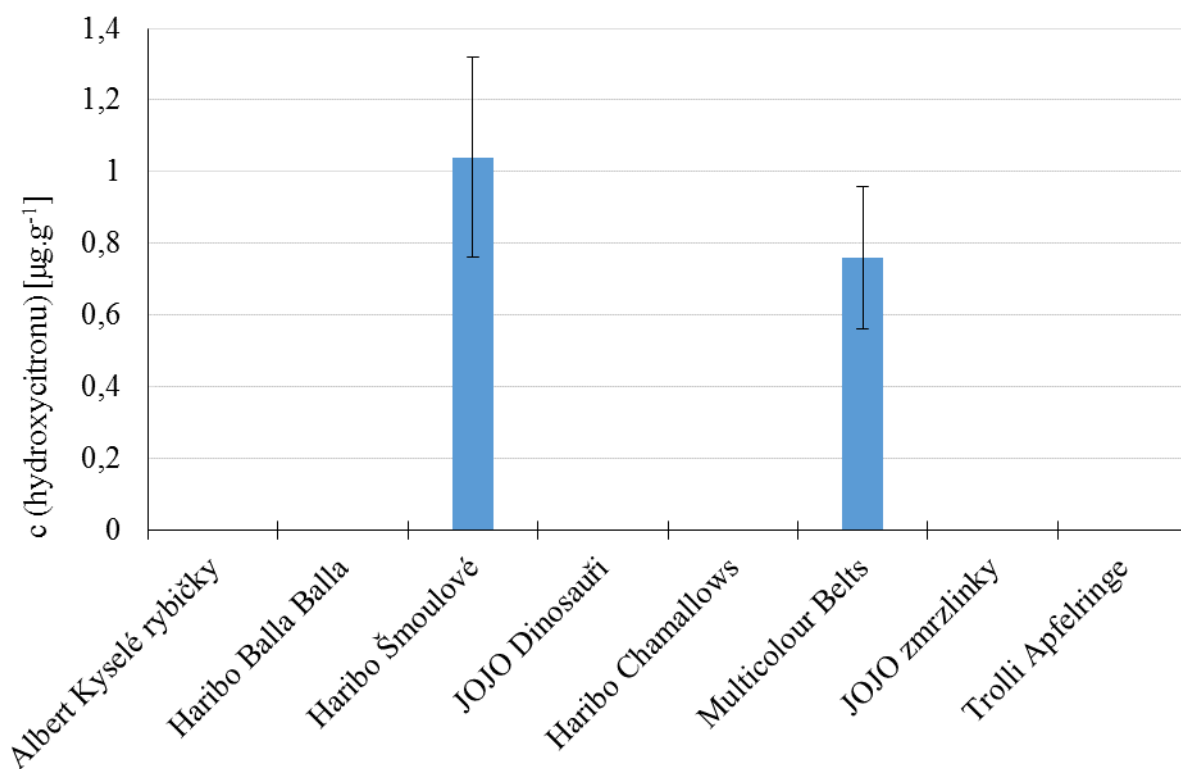
Graf 6 Porovnání obsahu citralu 2 v jednotlivých vzorcích



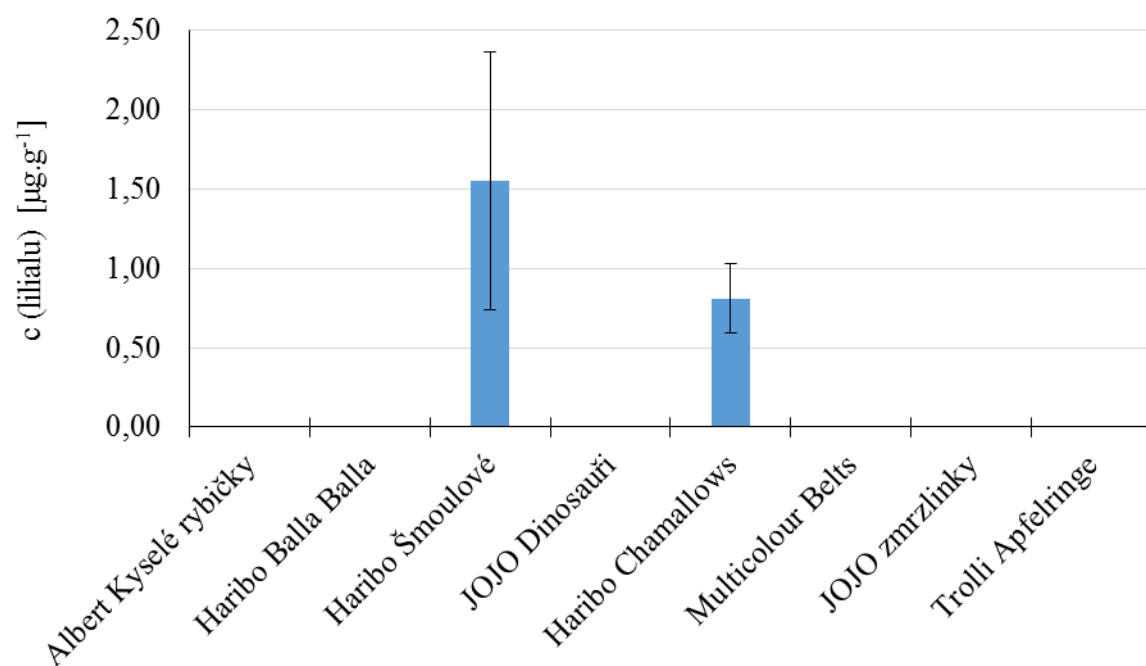
Graf 7 Porovnání obsahu isomethyliononu v jednotlivých vzorcích



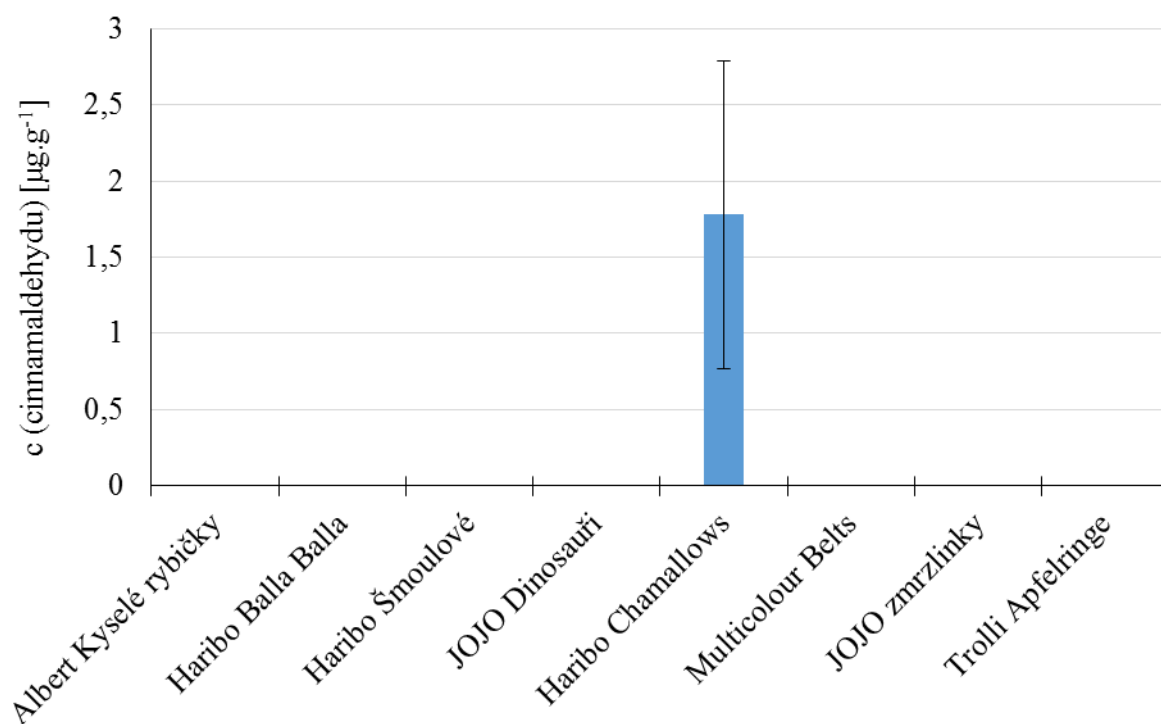
Graf 8 Porovnání obsahu benzylalkoholu v jednotlivých vzorcích



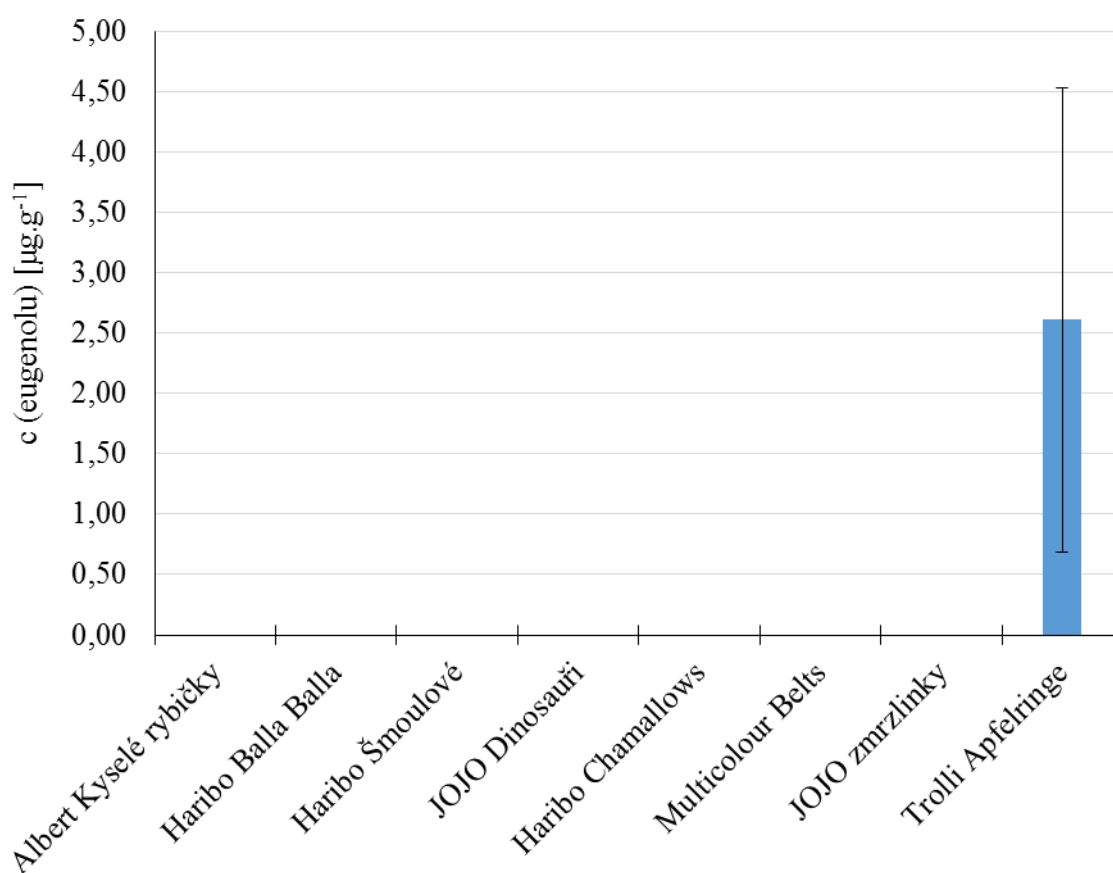
Graf 9 Porovnání obsahu hydroxycitronu v jednotlivých vzorcích



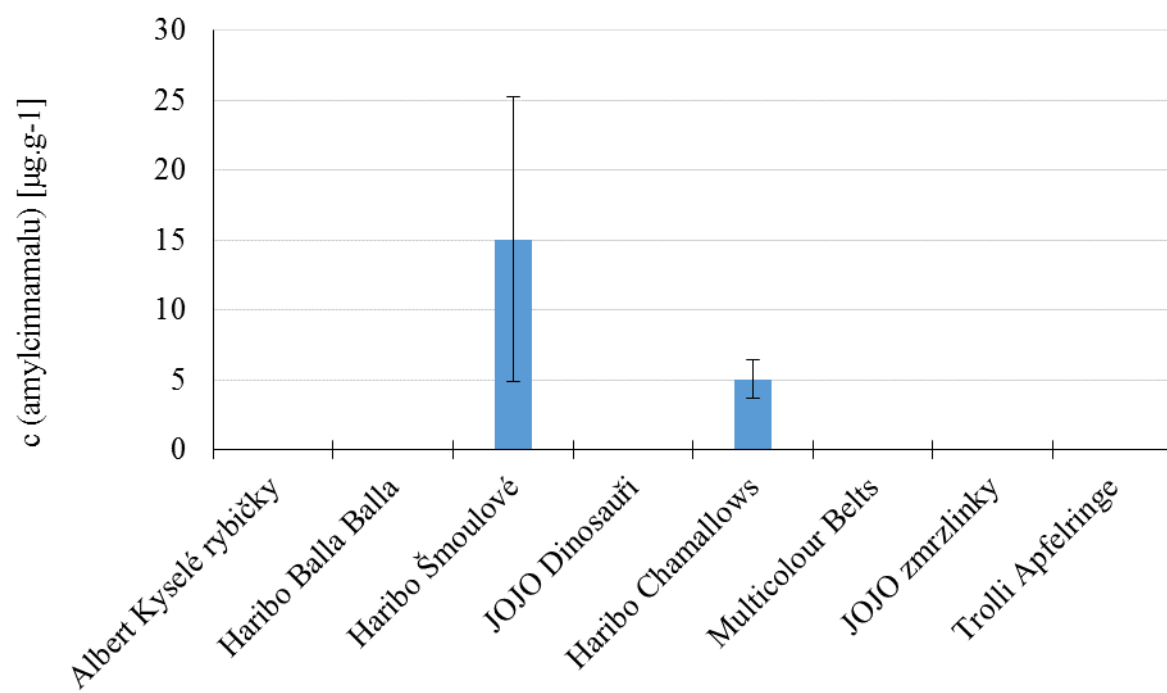
Graf 10 Porovnání obsahu lilialu v jednotlivých vzorcích



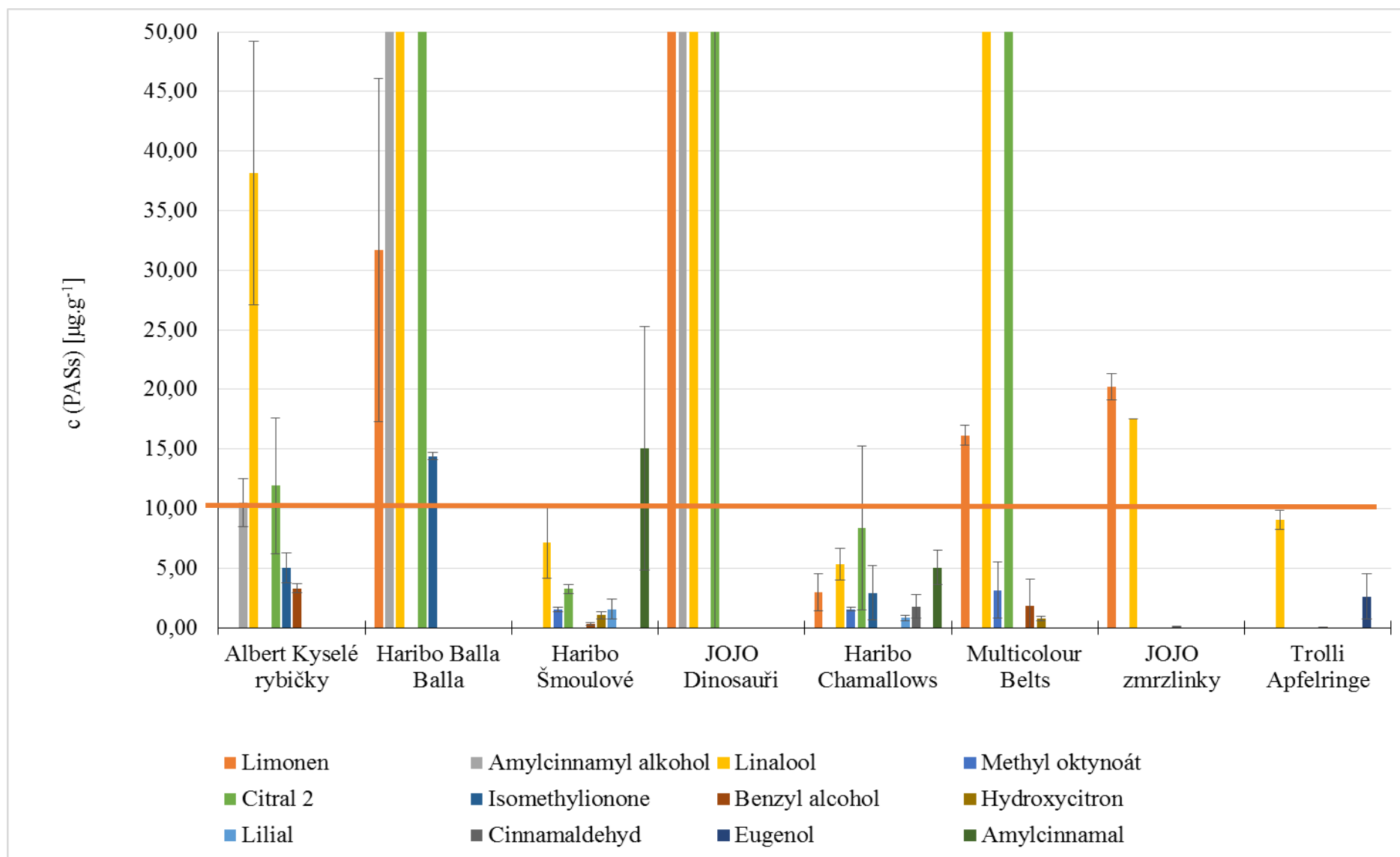
Graf 11 Porovnání obsahu cinnamaldehydu v jednotlivých vzorcích



Graf 12 Porovnání obsahu eugenolu v jednotlivých vzorcích



Graf 13 Porovnání obsahu amylcinnamalu v jednotlivých vzorcích



Graf 14 Porovnání obsahu identifikovaných PASS v jednotlivých vzorcích (označená limitní koncentrace 10 µg.g⁻¹)

4.4 Výsledky senzorické analýzy

Senzorické hodnocení bylo aplikováno na totožné vzorky, které byly podrobeny stanovení alergenických vonných látek.

Vybrané bonbóny hodnotilo celkem 10 hodnotitelů. Před vlastním senzorickým hodnocením byl testován osobní postoj posuzovatelů k těmto cukrovinkám z hlediska oblíbenosti konzumace. 9 hodnotitelů (90 %) uvedlo, že má želatinové bonbóny velmi rádo, 1 hodnotitel (10 %) odpověděl, že bonbóny nemá příliš rád, přičemž nikdo z účastníků neodpověděl, že tyto sladkosti nemá vůbec rád. Všichni hodnotitelé byli nekuřáci.

Rostoucí spotřebě cukrovinek na osobu/rok (**Graf 1**) napovídá i to, že 9 z 10 hodnotitelů uvedlo, že želatinové bonbóny má velmi rádo. Každý rok se na českém trhu objevují nové druhy cukrovinek. Trendem dnešní doby je výroba sladkostí s přidáním pouze přírodních barviv a aroma.

Při senzorickém hodnocení potravin je důležitá nejen vůně, ale především chuť, které společně s hmatovými počitky v ústní dutině tvoří tzv. flavour potraviny [38, 39]. Chuť a/nebo vůně úzce souvisí s obsahem vonných látek, které byly sledovány v první části této práce, při senzorickém hodnocení jsme se tedy zaměřili především na podrobné hodnocení chuti a vůně vzorků.

Pro senzorické hodnocení byl použit profilový test a hodnocení podle sedmibodové kategorové ordinální stupnice.

Tabulka 15 Kódování vzorků nečokoládových cukrovinek pro senzorickou analýzu

Kód	Cukrovinka
A01	Jojo Dinosauři
A02	Haribo Šmoulové
A03	Albert Kyselé rybičky
A04	Haribo Balla Balla
A05	Jojo Zmrzlinky
A06	Trolli Apfelringe
A07	Haribo Chamallows
A08	Multicolour Belts

4.4.1 Výsledky hodnocení podle stupnice

V první části dotazníku (v **Příloze I**) byla hodnocena intenzita a příjemnost celkové vůně a chuti na základě intenzitních (1 neznatelná → 7 velmi silná) a/nebo hédonických stupnic (1 vynikající → 7 nepříjemná).

V **Tabulkách 16 a 17** jsou shrnuty veškeré výsledky hodnocení vůně a chuti, v **Grafu 15** je uvedeno přehledné grafické srovnání intenzity a příjemnosti chuti a vůně vzorků. Výsledky jsou prezentovány jako medián (n = 10).

Z **Grafu 15** je patrné, že vzorky A01, A02, A04 a A05 (Jojo Dinosauři, resp. Haribo Šmoulové, Haribo Balla Balla a Jojo Zmrzlinky) voněly podle hodnotitelů nejintenzivněji, podle použité stupnice byla vůně „silnější“, nejpríjemněji ale voněly vzorky A01 a A02 (Jojo

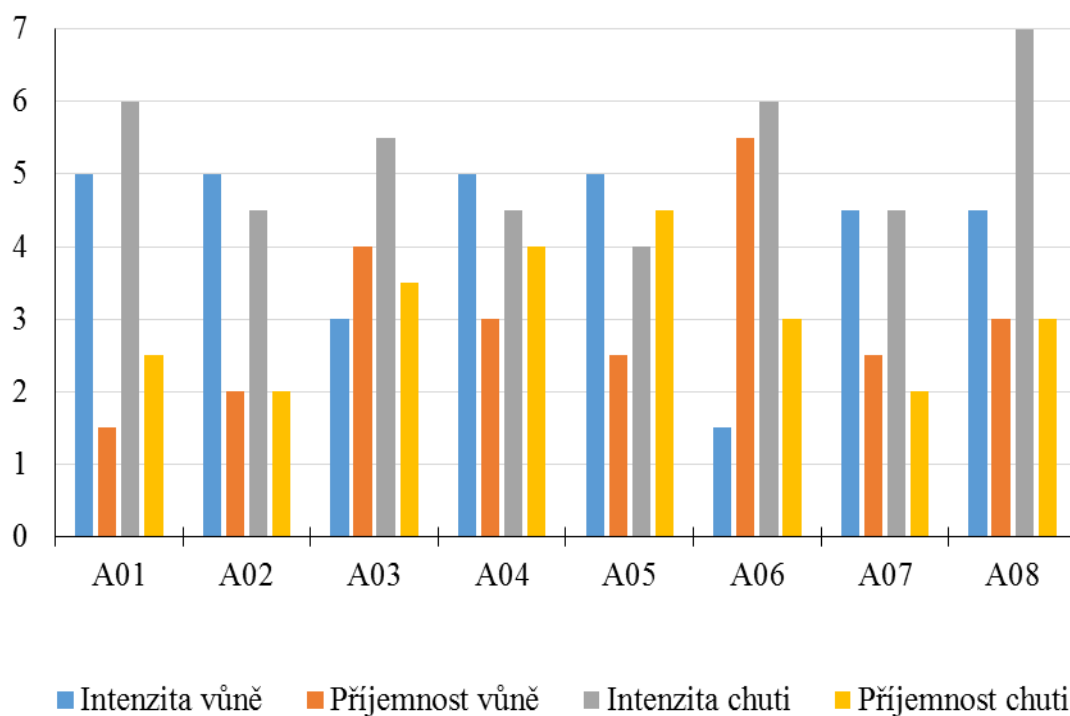
Dinosauři a Haribo Šmoulové), vůně byla ohodnocena jako „výborná“ až „vynikající“. Nejintenzivněji chutnal vzorek A08 (Multicolour Belts), a to „velmi silná“ chuť, který se vyznačoval velmi kyselou chutí, a nejpříjemněji chutnaly vzorky A02 a A07, tedy Haribo Šmoulové a Haribo Chamallows. Obě tyto pěnové cukrovinky byly ohodnoceny jako „výborné“. Z hédonického hlediska byl nejlépe hodnocen vzorek A01 (Jojo Dinosauři – želé s ovocnými příchutěmi) a A02 (Haribo Šmoulové – pěnové cukrovinky).

Tabulka 16 Výsledky hodnocení vůně vzorků

Vzorek	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08
Intenzita vůně	5	5	3	5	5	1,5	4,5	4,5
Příjemnost vůně	1,5	2	4	3	2,5	5,5	2,5	3
Ovocná vůně	5,5	1	1,5	2,5	2	1,5	2,5	4,5
Sladká vůně	4,5	6	2,5	4	5,5	1,5	6	4
Kyselá vůně	3	1	2,5	2,5	1	3	1	4
Jiná příjemná vůně	1	1,5	1	1	1	1	1	1
Jiná nepříjemná vůně	1	1	1,5	1,5	1	2,5	1	1

Tabulka 17 Výsledky hodnocení chuti vzorků

Vzorek	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08
Intenzita chuti	6	4,5	5,5	4,5	4	6	4,5	7
Příjemnost chuti	2,5	2	3,5	4	4,5	3	2	3
Charakteristická chuť	3	2,5	1	1	3,5	2	4,5	2
Ovocná chuť	5,5	1,5	5,5	3	1,5	4	2	5
Sladká chuť	4	6	4	4,5	5,5	3	7	3
Kyselá chuť	3,5	1	5	3	1	7	1	7
Umělá chuť (po plastech)	1,5	1	1,5	3	2	1	2	1
Jiná příjemná chuť	1	1	1	1	1	1	1	1
Jiná nepříjemná chuť	1	1	1	1	1	1	1	1



Graf 15 Srovnání intenzity a příjemnosti vůně a chuti vzorků bonbónů A01-A08. Použitá stupnice pro intenzitu vůně a chuti: 1 neznatelná → 7 velmi silná. Použitá stupnice pro příjemnost vůně a chuti: 1 vynikající → 7 nepříjemná. Výsledky jsou prezentovány jako medián (počet hodnotitelů $n=10$). Kódy vzorků viz **Tabulka 15**.

4.4.2 Výsledky profilového testu

Chuť a vůně potraviny je většinou přesně specifikována na obalu (jahodová, citronová, mátová apod.) nebo je patrná z typu, příp. složení výrobku. Významnou součástí senzorického hodnocení bylo pokusit se rozpoznat charakteristickou chuť a/nebo vůni výrobku. Pomocí profilového testu byla hodnocena intenzita vybraných deskriptorů chuti a vůně. Výsledky jsou graficky znázorněny v **Grafech 16 – 19**. Pro bližší posouzení celkového aroma cukrovinek byly vybrány deskriptory vůně (ovocná, sladká, kyselá) a chuti (ovocná, sladká, kyselá, umělá). Hodnotitelé měli posoudit, který z těchto deskriptorů má největší vliv na výsledný flavour jednotlivých bonbónů. Vedle konkrétních deskriptorů byly do dotazníku zahrnuty i tři obecné deskriptory:

- *charakteristická* - hodnotitelé se měli pokusit popsat chuť, která jim připadá pro daný vzorek typická, charakteristická, nejsilněji vnímaná
- *jiná příjemná* - jakákoliv jiná vnímaná vůně a /nebo chuť, v dostatečné intenzitě, kterou lze popsat jako příjemnou
- *jiná nepříjemná* - vůně a /nebo chuť pro vzorek netypická, nepříjemná, v dostatečné intenzitě (*off-flavour*)

Tyto deskriptory se však v hodnocení vyskytovali výjimečně, a pokud ano, tak ve velmi nízkých intenzitách, proto nejsou zpracovány graficky, ale jsou zaznamenány v **Tabulkách 18 a 19**, kde jsou přehledně uvedeny termíny, které jednotliví hodnotitelé uvedli pro charakterizaci těchto obecných deskriptorů.

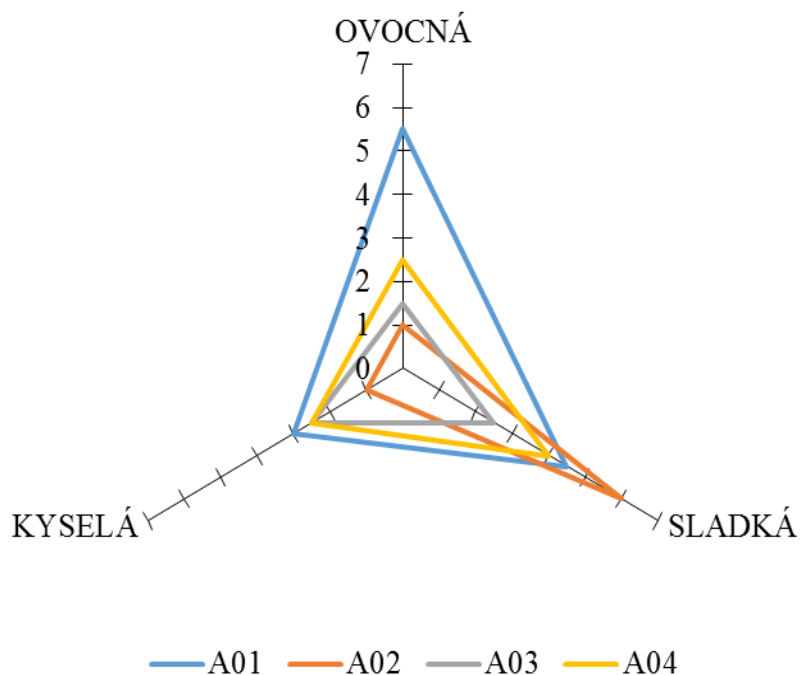
Z **Grafů 16 a 17** je patrné, že nejintenzivnější ovocnou vůní se vyznačuje vzorek A01 (Jojo Dinosauři). Intenzita ovocné vůně u vzorků kolísá na stupnici od „neznatelné“ po „silnější“ až „dosti silnou“. Nejintenzivnější sladkou vůni mají vzorky A02 a A07 (pěnové cukrovinky Haribo Šmoulové, resp. Haribo Chamallows), oba jsou hodnoceny jako „dosti silné“. Nejintenzivnější kyselou vůni má vzorek A08 (Multicolour Belts), která je označena jako „střední“. Jiná příjemná a jiná nepříjemná vůně je u všech vzorků „neznatelná“ až „velmi slabá“. Protože hodnotitelé jinou příjemnou a jinou nepříjemnou vůni zaznamenali pouze zřídka, jsou jednotlivé vůně zaznamenány v **Tabulce 18**. Za zmínku stojí např. karamelová vůně u vzorku A05 (Jojo zmrzlinky), kterou uvedli tři hodnotitelé, jelikož na obalu výrobce uvádí přítomnost aroma oplatky, zmrzliny a jahody.

Nepříjemná vůně nebyla skoro vůbec zaznamenána, pouze několik hodnotitelů cítilo umělou, trpkou, po plastech a hořkou vůni.

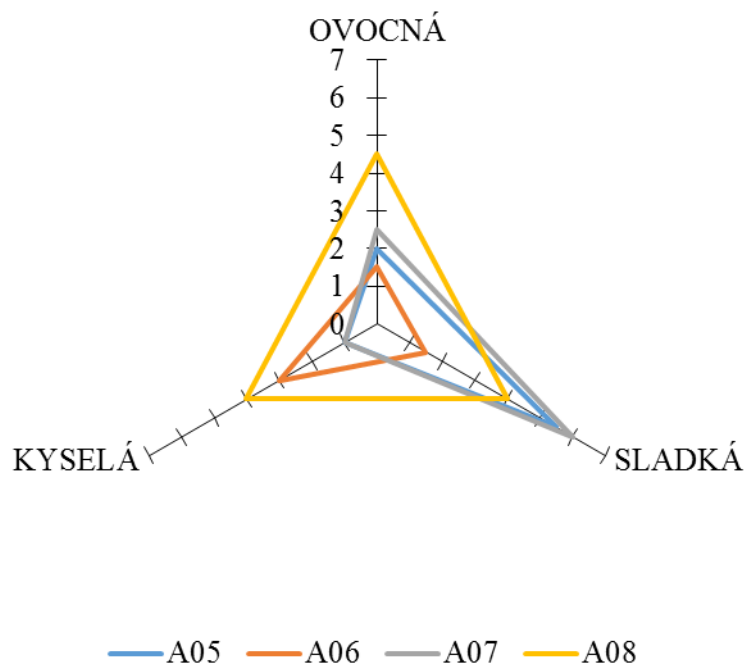
V **Grafech 18 a 19** je znázorněna intenzita chuťových deskriptorů. Nejintenzivněji hodnotitelé vnímali ovocnou chuť u vzorků A01 a A03 (Jojo Dinosauři a Albert Kyselé rybičky), na stupnici intenzity je ohodnotili mezi „silnější“ a „dosti silnou“. Jako nejsladší byly vnímány vzorky A02 a A07 (pěnové cukrovinky Haribo Šmoulové, resp. Haribo Chamallows), podle intenzitní stupnice „dosti silná“, respektive „velmi silná“ sladká chuť. „Velmi silně“ kyselé byly vzorky A06 a A08 (Trolli Apfelringe a Multicolour Belts), tedy cukrovinky, které jsou obaleny v kyselém cukru. Umělá chuť byla většinou „neznatelná“ až „velmi slabá“, což je dobře, protože se jedná o nežádoucí off-flavour. Pouze ve vzorku A04 (Haribo Balla Balla) byla hodnotiteli zaznamenána „slabá“ umělá chuť. Jiná příjemná a jiná nepříjemná chuť je u všech vzorků „neznatelná“.

Jen několik hodnotitelů uvedlo u charakteristické, jiné příjemné a jiné nepříjemné chuti něco jiného než „neznatelná“, ale v **Tabulce 19** jsou shrnuty jmenovitě rozpoznané chuti. Například ve vzorku A06 (Trolli Apfelringe) byla čtyřmi hodnotiteli identifikována charakteristická jablečná chuť, jeden hodnotitel ji označil jako jinou příjemnou, což odpovídá údajům na obalu, kde deklarují 12 % jablečné šťávy z koncentrátu. Jako další byla označena kyselá chuť jako charakteristická, což zvolili tři hodnotitelé. Ve vzorku A01 (Jojo Dinosauři) byly vyjmenovány jako charakteristické chutě – citronová, kyselá, jablečná, květinová, lesní ovoce a jako jiná příjemná pomeranč. To je dáno více druhy želé bonbónů v balení. Vzorky A02 a A07 jsou pěnové cukrovinky Haribo Šmoulové a Haribo Chamallows, v obou byla jako charakteristická a jiná příjemná chuť uvedena karamelová a mléčná. Vzorek A05 (Jojo Zmrzlinky) byl na obalu označen jako želé s příchutí ovoce, zmrzliny a oplatky, hodnotitelé vnímali chuť jako karamelovou a mléčnou.

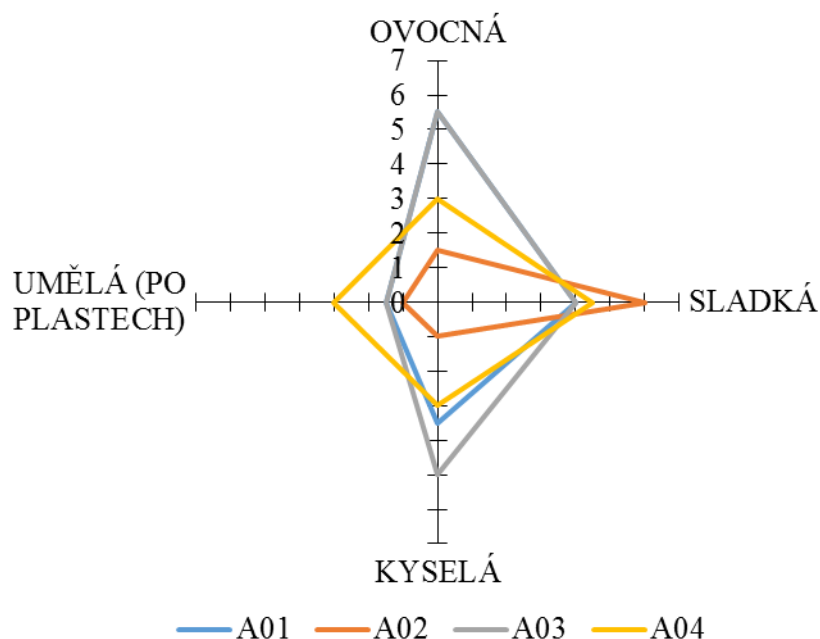
Jiné nepříjemné chuti se vyskytovaly pouze sporadicky, jmenovitě např. kyselá, hořká, svíravá, slaná, umami, gumová, umělá a moučná.



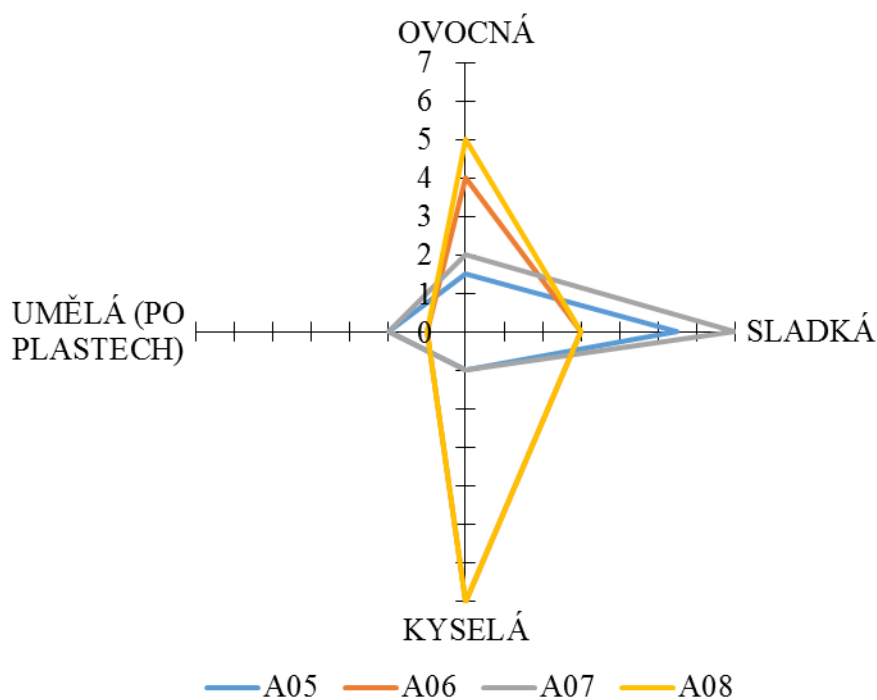
Graf 16 Profilový test vybraných deskriptorů vůní pro vzorky želatiových bonbónů A01-A04. Použitá stupnice pro intenzitu vůně a chuti: 1 neznatelná → 7 velmi silná. Výsledky jsou zobrazeny jako medián (počet hodnotitelů n=10). Kódy vzorků viz **Tabulka 15**.



Graf 17 Profilový test vybraných deskriptorů vůní pro vzorky želatiových bonbónů A05-A08. Použitá stupnice pro intenzitu vůně a chuti: 1 neznatelná → 7 velmi silná. Výsledky jsou zobrazeny jako medián (počet hodnotitelů n=10). Kódy vzorků viz **Tabulka 15**.



Graf 18 Profilový test vybraných deskriptorů chutí pro vzorky želatinových bonbónů A01-A04. Použitá stupnice pro intenzitu vůně a chuti: 1 neznatelná → 7 velmi silná. Výsledky jsou prezentovány jako medián (počet hodnotitelů n=10). Kódy vzorků viz **Tabulka 15**.



Graf 19 Profilový test vybraných deskriptorů chutí pro vzorky želatinových bonbónů A05-A08. Použitá stupnice pro intenzitu vůně a chuti: 1 neznatelná → 7 velmi silná. Výsledky jsou prezentovány jako medián (počet hodnotitelů n=10). Kódy vzorků viz **Tabulka 15**.

Tabulka 18 Seznam popisných výrazů pro deskriptory „jiná příjemná a jiná nepříjemná“ vůně

Profilový test vůní		A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08
Jiná příjemná	marshmallow		1					1	
	cola				1				
	mléčná		1						
	karamel		1			3		1	
	umělá		1			1		1	
	vanilková					1			
Jiná nepříjemná	umělá	1	1	2	2	1	1	1	
	trpká			1					
	po plastech	1			1	1	1		
	hořká				1		1		

Tabulka 19 Seznam popisných výrazů pro deskriptory „charakteristická, jiná příjemná a jiná nepříjemná“ chuť

Profilový test chuti		A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08
Charakteristická	citron	2			1				1
	karamel		1			2		1	
	kyselá	1		1			3		3
	jablečná	1					4		1
	květinová	1							
	vanilková		1					1	
	lesní ovoce	2		1					1
	cola				1				
	mléčná		1		1	2	1	1	
	umělá				1				
Jiná příjemná	pomeranč	1		1					
	citron				1				
	karamel		1			2		1	
	jablko						1		
	rybíz								1
	trpká			1	1		2		1

Tabulka 19 Seznam popisných výrazů pro deskriptory „charakteristická, jiná příjemná a jiná nepříjemná“ chutí – pokračování

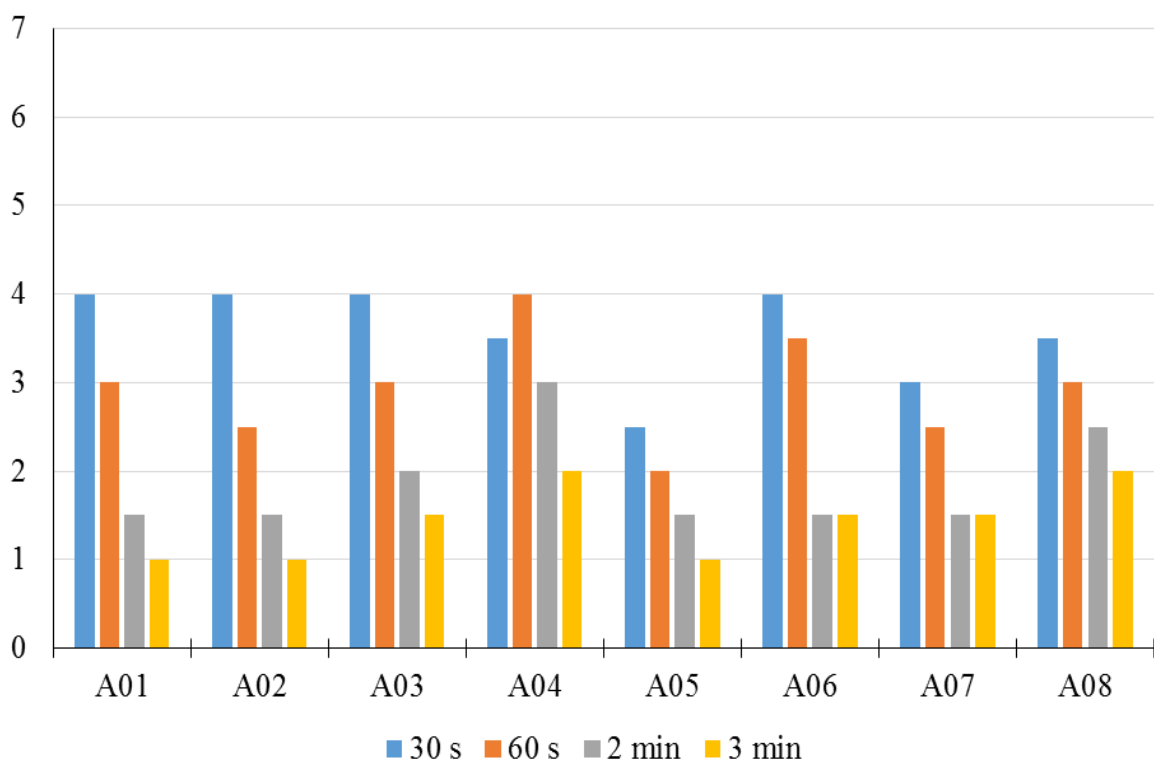
Profilový test chuti		A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08
Jiná nepříjemná	kyselá				1				
	hořká					1			1
	svíravá				1				
	slaná						1		
	umami				1				1
	gumová	1	1			1		1	
	umělá		1	1					
	moučná		1						

4.4.3 Časové doznívání chuti

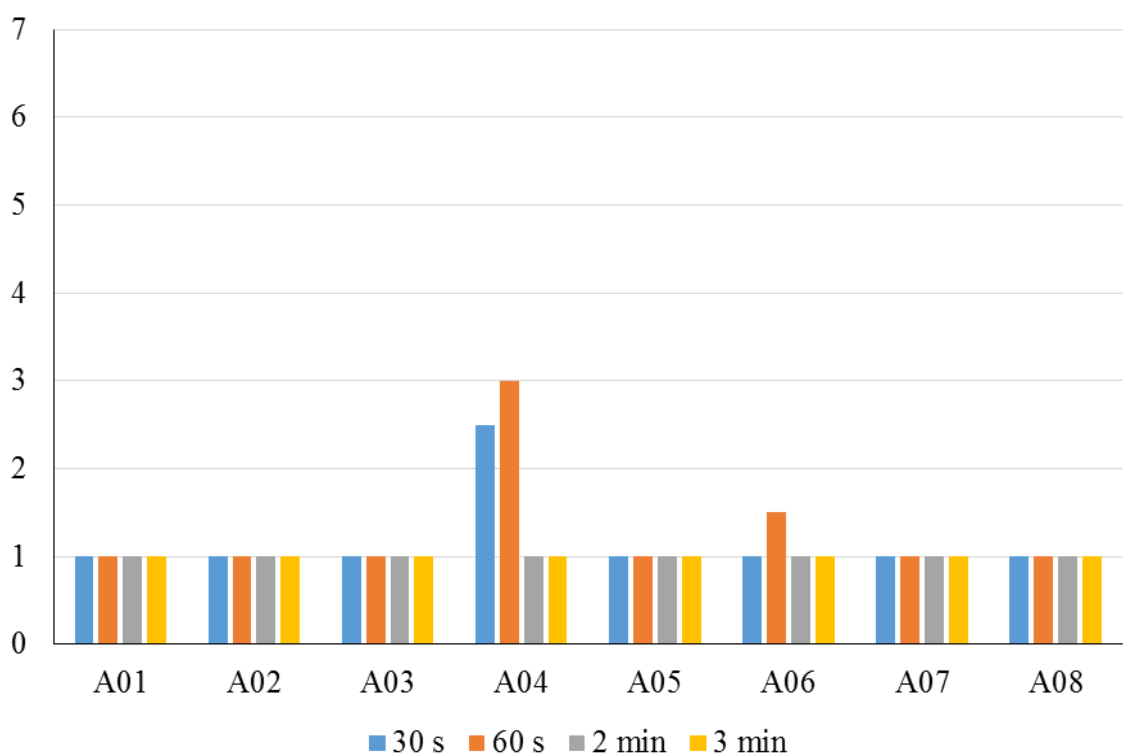
Pro získání celkového popisu flavouru vzorků bylo na závěr hodnoceno časové doznívání chuti. Hodnotitelé měli za úkol vzorky zkonzumovat a po dobu 3 minut v určených časových intervalech 30 sekund, 60 sekund, 2 minuty a 3 minuty zaznamenávat intenzitu vnímání příjemné a nepříjemné chuti.

Jak je patrné z **Grafu 20** intenzita příjemné chuti se podle očekávání postupně snižovala, pouze u vzorku A04 (Haribo Balla Balla) byl zaznamenán po 60 sekundách mírný nárůst příjemné chuti a poté očekávaný pokles. Po třech minutách byla u tří vzorků chuť „neznatelná“, u tří vzorků byla „neznatelná“ až „velmi slabá“ a u dvou vzorků byla „velmi slabá“.

V **Grafu 21** je vidět, že intenzita nepříjemné chuti byla po vymezenou dobu u většiny vzorků hodnocena jako „neznatelná“, pouze u vzorků A04 a A06 (Haribo Balla Balla a Trolli Apfelringe) byla po minutě zaznamenána „velmi slabá“ až „slabá“ nepříjemná chuť. Po 3 minutách byla u všech vzorků chuť „neznatelná“. Jiná (tzv. následná) chuť po 3 minutách nebyla hodnotiteli identifikována u žádného vzorku ve vnímatelné intenzitě.



Graf 20 Doznívání intenzity příjemné chuti vzorků cukrovinek.
Kódy vzorků viz **Tabulka 15**.



Graf 21 Doznívání intenzity nepříjemné chuti vzorků cukrovinek.
Kódy vzorků viz **Tabulka 15**.

5 ZÁVĚR

V potravinářském průmyslu mají vonné látky velmi široké použití, aktuálně se na trhu vyskytuje široké spektrum aromatizovaných výrobků jako například nečokoládové cukrovinky nebo alkoholické i nealkoholické nápoje. Cílem této práce bylo identifikovat vonné látky přítomné v nečokoládových cukrovinkách a posoudit vliv jejich obsahu na sensorické vlastnosti výrobků.

Průmyslově se využívají stovky až tisíce vonných látek, které mají pozitivní vliv na sensorické vlastnosti, ale mohou vyvolat negativní reakce, obzvláště pak u citlivých jedinců. Nežádoucí reakce na aromatické sloučeniny mohou být kožní nebo dýchací problémy, bolesti hlavy a další. Z důvodů těchto možných negativních účinků bylo určeno 26 nejvýznamnějších potenciálních aromatických alergenů, jejichž obsah je limitován v kosmetickém průmyslu, nikoliv však v potravinářství.

Přítomnost vybraných vonných alergenních látek v kosmetických výrobcích musí být označena ve složení na obalu výrobku, pokud jejich koncentrace přesáhne stanovenou mez 10 mg.kg^{-1} v *leave-on* (nesmývatelné do 20 minut) produktech a 100 mg.kg^{-1} v *rinse-off* (smývatelné do 20 minut) výrobcích. Legislativa pro potravinářský průmysl pro tyto látky přidávané do potravin ve formě aditiv zatím neexistuje, přítomnost vonných látek je na obale označena pouze slovem „aroma“, popřípadě rozšířeným názvem „ovocné, jahodové, citronové aj. aroma“.

Metoda SPME-GC-FID je jednoduchá, rychlá a účinná metoda pro stanovení těkavých aromatických látek. Touto metodou byly v osmi vybraných vzorcích nečokoládových cukrovinek zakoupených v běžné tržní síti identifikovány a kvantifikovány PASs.

Ve vzorcích bylo identifikováno celkem 12 PASs, přičemž v jednotlivých vzorcích se jich nacházelo 3 – 8. Nejméně vonných látek bylo zjištěno ve vzorcích Jojo Zmrzlinky a Trolli Apfelringe; u obou těchto vzorků byly identifikovány tři sloučeniny. Nejvíce aromatických sloučenin bylo identifikováno ve vzorcích pěnových cukrovinek Haribo Chamallows a Haribo Šmoulové, a to osm, resp. sedm.

Koncentrace se pohybovaly v rozsahu $0,04 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ do $4,48 \pm 0,31 \text{ mg.g}^{-1}$. Celkově nejvyšší byla koncentrace limonenu ve vzorku Jojo Dinosauri a celkově nejnižší byla koncentrace benzylalkoholu ve vzorku Trolli Apfelringe.

Z důvodu absence legislativního omezení těchto látek v potravinách, pro potřeby této práce byla stanovena srovnávací limitní koncentrace jednotlivých sloučenin 10 mg.kg^{-1} ($= \mu\text{g.g}^{-1}$). Ve vzorcích Haribo Balla Balla (identifikováno celkem 5 PASs) a Jojo Dinosauri (identifikováno celkem 4 PASs) koncentrace všech identifikovaných sloučenin významně převyšovaly tuto limitní hodnotu, naopak ve vzorcích Haribo Chamallows (identifikováno celkem 8 PASs) a Trolli Apfelringe (identifikováno celkem 3 PASs) se koncentrace pohybovaly ve velmi nízkých hodnotách. Z hlediska obsahu PASs lze tedy za nejlepší považovat vzorek Trolli Apfelringe. Za diskutabilní z hlediska možných nežádoucích účinků pak vzorky Haribo Balla Balla a Jojo Dinosauri, kde byly stanoveny poměrně vysoké koncentrace všech identifikovaných PASs.

Vzhledem k tomu, že vůně a chuť jsou pro spotřebitele klíčovými faktory při výběru produktu, je důležitá sensorická analýza. Ta byla provedena hodnocením vůně, chuti a doznívání chuti testovaných vzorků. Hodnocení se zúčastnilo celkem 10 hodnotitelů z řad studentů FCH VUT v Brně. Hodnocení probíhalo ve specializované sensorické laboratoři, která zajišťuje hodnotitelům optimální podmínky.

Všechny vzorky analyzované metodou SPME-GC-FID byly také podrobeny sensorickému hodnocení. K hodnocení vzorků byl použit profilový test pro vybrané deskriptory vůně (ovocná, sladká, kyselá) a chuti (ovocná, sladká, kyselá, umělá) a sedmibodová kategorová ordinální stupnice, podle které byla hodnocena intenzita a příjemnost celkové vůně a chuti.

Mezi vzorky byly nalezeny výrazné rozdíly v hodnocení chuti a vůně. Co se týče vůně, nejintenzivnější a nejpříjemnější vůni měli Jojo Dinosauri, naopak nejméně intenzivní a zároveň nejméně příjemnou Trolli Apfelringe. Intenzita chuti byla obdobná u všech vzorků, jako nejintenzivnější byl hodnocen vzorek Multicolour Belts (velmi silná), nejpříjemnější chuť (výborná) Haribo Šmoulové a Haribo Chamallows.

Přítomnost aromatických potenciálně alergenních látek má do jisté míry určitou spojitost se senzorickými vlastnostmi výrobků, protože některé vůně a chuti byly hodnotiteli správně rozpoznány.

Například vzorek Trolli Apfelringe ve složení uvádí obsah 12 % jablečné šťávy z koncentrátu a polovina hodnotitelů rozpoznala jablečnou chuť. Na obalu vzorku Jojo zmrzlíčky je uveden karamelizovaný cukrový sirup a čtyři hodnotitelé rozpoznali karamelovou nebo vanilkovou vůni a chuť. V úvahu se ale musí vzít i to, že celkový dojem vůně a chuti není obvykle tvořen jednou látkou, ale většinou se jedná o více vonných látek dohromady.

Z výsledků této práce vyplývá, že v cukrovinkách se mohou nacházet vysoké koncentrace PASs, přestože na obalu je uveden jen obecný termín aroma. O jejich vlivu na zdraví, i vzhledem k obvykle malému konzumovanému množství, se lze jen dohadovat, přesto by bylo vhodné obsah PASs legislativně omezit i v případě potravin popř. na ně alespoň upozornit na obalu výrobku.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ČOPÍKOVÁ, Jana. *Technologie čokolády a cukrovinek*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1999, 168 s. ISBN 80-708-0365-7.
- [2] DRDÁK, Milan, STUDNICKÝ, Július, MÓROVÁ, Eva, KAROVIČOVÁ, Jolana. *Základy potravinářských technologií spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 1996. 512 s. ISBN 80-967064-1-1.
- [3] Spotřeba potravin 2014. In: *Agrární poradensko informační centrum Agrární komory ČR* [online]. 2005 [cit. 2016-04-13]. Dostupné z: http://www.apic-ak.cz/data_ak/15/k/Stat/SpotrebaPotravin2014.pdf
- [4] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin II*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, xx, 623 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [5] DOSTÁLOVÁ, Jana a Pavel KADLEC. *Potravinářské zbožíznalství: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2014. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-208-2.
- [6] Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích, v platném znění.
- [7] Vyhláška ministerstva zemědělství č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_vyhlaska-2003-76-potraviny.html
- [8] PLEVOVÁ, P. Monitoring alergenních vonných látek v potravinách. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 52 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..
- [9] DIVIŠOVÁ, Radka. Alergenní vonné látky v potravinách a předmětech běžného užívání. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 224 s. Vedoucí dizertační práce doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc..
- [10] Directive 2003/15/EC of the European Parliament and the Council of 27 February 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products. In: 2003. 2003. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:066:0026:0035:en:PDF>
- [11] KUBELOVÁ, Jana (Aroma Praha a.s.): *Parfémové kompozice a současná diskuze kolem nich*. Kosmetologický seminář, 4.-6. Dubna 2005, České Budějovice. Dostupné z: http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CC8QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.kozmetologia.sk%2F2005_prednasky%2FKubelova.ppt&ei=PTJZU4i8CsXT4QTYh4C4Cg&usg=AFQjCNG9IR95Sfh6o808ueqfxsMnLBCZ5Q&sig2=7AeCWDvBhdTB8MmMuW7PQQ&bvm=bv.65397613,d.bGQ&cad=rja
- [12] MOKÁŇOVÁ, Radka. *Analýza vonných látek v kosmetických prostředcích metodou plynové chromatografie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 92 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Jana Zemanová, Ph.D.
- [13] CHISVERT, Alberto.: Analytical methods to determine potentially allergenic fragrance-related substances in cosmetic. *Analysis of Cosmetic Products*. Ed.Elsevier, 2007, pp. 257-275. ISBN 978-0-444-52260-3

- [14] Vyhláška ministerstva zemědělství č. 447/2004 Sb., o požadavcích na množství a druhy látek určených k aromatizaci potravin, podmínky jejich použití, požadavky na jejich zdravotní nezávadnost a podmínky použití chininu a kofeinu. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/ostatni/Legislativa-ostatni_uplna-zneni_vyhlaska-2004-447.html>
- [15] Předpis č.260/2012 Sb., o zrušení vyhlášky č. 447/2004 Sb., o požadavcích na množství a druhy látek určených k aromatizaci potravin, podmínky jejich použití, požadavky na jejich zdravotní nezávadnost a podmínky použití chininu a kofeinu. Dostupné z: <<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-260>>
- [16] Evropská unie. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1334/2008 ze dne 16. prosince 2008 o látkách určených k aromatizaci a některých složkách potravin vyznačujících se aromatem pro použití v potravinách nebo na jejich povrchu a o změně nařízení Rady (EHS) č. 1601/91, nařízení (ES) č. 2232/96 a č. 110/2008 a směrnice 2000/13/ES. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 31.12.2008, L 354, Svazek 51.ISSN 1725-5074.
- [17] LAKE, B.G, J.G EVANS, F. CHAPUIS, D.G WALTERS a R.J. PRICE. Studies on the disposition, metabolism and hepatotoxicity of coumarin in the rat and Syrian hamster. *Food and Chemical Toxicology*. 2002, vol. 40, issue 6, s. 809-823. ISSN 0278-6915.
- [18] LAKE, B.G. Coumarin Metabolism, Toxicity and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment. *Food*
- [19] Zákon č. 223/2013 Sb. kterým se mění zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů
- [20] KRATOCHVÍL, František.: *Epikutánní testy* [online]. 2007[cit. 2014-04-28]. Dostupné z: <<http://www.epitesty.cz/default.asp?inc=fset>>
- [21] PubChem. [databáze online]. 2004 [cit. 2014-04-29]. Dostupné z WWW: <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.
- [22] The Good Scents Company. *The Good Scents Company* [online]. 1980-2014 [cit. 2014-04-28]. Dostupné z: <<http://www.thegoodscentscompany.com/>>
- [23] ŠKOPOVÁ, Jitka. *Stanovení vybraných vonných látek v potravinách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 82 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová Ph.D.
- [24] ASCHEROVÁ, Adriana. *Stanovení vybraných vonných látek v potravinách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 87 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová Ph.D.
- [25] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2. upr. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [26] OBRDLÍKOVÁ, B. *Stanovení vybraných vonných látek v potravinách a kosmetických výrobcích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 137 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [27] PAWLISZYN, Janusz. *Solid phase microextraction: theory and practice*. New York: Wiley-VCH, c1997. ISBN 0471190349.
- [28] BOJKO, Barbara, Erasmus CUDJOE, German A. GÓMEZ-RÍOS, Krzysztof GORYNSKI, Ruifen JIANG, Nathaly REYES-GARCÉS, Sanja RISTICEVIC, Érica A.S. SILVA, Oluranti TOGUNDE, Dajana VUCKOVIC a Janusz PAWLISZYN. SPME – Quo vadis?: Diversa cancellariae II (1284-1286) ; Zapisi notara Aca de Titullo 1295-1297 : Diversa cancellariae III (1295-1297). *Analytica Chimica Acta*.

- Editor Josip Lučić. 2012, vol. 750, s. 132-151. DOI: 10.1016/j.aca.2012.06.052. Dostupné z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267012010021>>
- [29] CHURÁČEK, J., et al. Analytická separace látek. Praha : SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1990. 384 s. ISBN 80-03-00569-8.
- [30] FIDRICHOVÁ, I. Obsah alergenních vonných látek ve vybraných typech potravin. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 67 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [31] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie* 2. 1. vyd. Brno: VUTIUM, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [32] VAN RUTH, Saskia M. *Methods for gas chromatography-olfactometry: a review*. DOI: 10.1016/S1389-0344(01)00070-3. ISBN 10.1016/S1389-0344(01)00070-3. Dostupné také z: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1389034401000703>>
- [33] JELÍNKOVÁ, M. Stanovení vonných látek rostlinného původu v potravinách. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 79 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [34] TAYLOR, AJ. Food Flavour Technology. Blackwell Publishing, 2002. 316 p. ISBN 978- 1-84127-224-5.
- [35] ACREE, Terry E. Peer Reviewed: GC/Olfactometry GC With a Sense of Smell. *Analytical Chemistry*. 1997, **69**(5), 170A-175A. DOI: 10.1021/ac971560s. ISSN 0003-2700. Dostupné také z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac971560s>>
- [36] VOLKA, Karel a kol. *Analytická chemie II*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-7080-227-8.
- [37] BANIK, Rahul, Dong-Yeon LEE a Dae-Gab GWEON. A high-speed miniature screening gaschromatograph with flame ionization detector. *Journal of Mechanical Science and Technology*. 2005, **19**(12), 2197-2204. DOI: 10.1007/BF02916459. ISSN 1738-494x. Dostupné také z: <<http://link.springer.com/10.1007/BF02916459>>
- [38] POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSÁ a Helena VALENTOVÁ. *Senzorická analýza potravin*. Vyd. 1. Praha: VŠCHT, 1998, 95 s. ISBN 80-7080-329-0.
- [39] POKORNÝ, Jan, Ivo INGR a Helena VALENTOVÁ. *Senzorická analýza potravin*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1997. ISBN 80-715-7283-7.
- [40] LIŠKOVÁ, M. *Stanovení aromaticky aktivních látek v plodech rybízu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 90 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..
- [41] ČSN ISO 6658. Senzorická analýza – Metodologie – Všeobecné pokyny. Praha: Český normalizační institut, 2009. 24 s.
- [42] ČSN ISO 8589. Senzorická analýza – Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště. Praha: Český normalizační institut, 2008. 20 s.
- [43] BUŇKA, František, Jan HRABĚ a Bohumír VOSPĚL. *Senzorická analýza potravin I*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008, 95 s. ISBN 978-80-7318-628-9.
- [44] POKORNÝ, Jan. *Senzorická analýza potravin: Laboratorní cvičení*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1997, 62 s. ISBN 80-708-0278-2.
- [45] GREIFENTHALOVÁ, I. Stanovení vybraných vonných látek v potravinách. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 81 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [46] MELIKANTOVÁ, M. *Stanovení aromaticky aktivních látek v odrůdách rakytníku řešetlákového*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 127 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D..

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

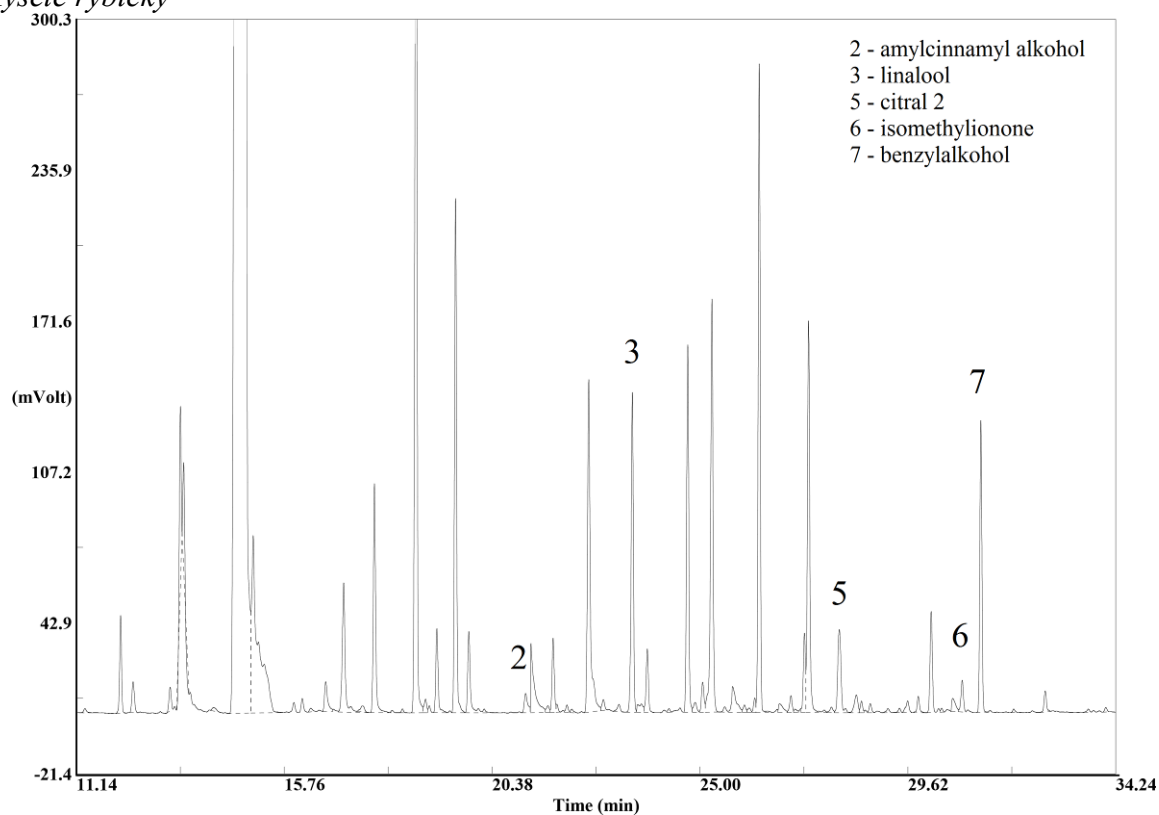
aj.	a jiné
EC	Evropská komise <i>European Commission</i>
EU	Evropská Unie <i>European Union</i>
DI	Přímý nástřik <i>Direct injection</i>
FID	Plamenově ionizační detektor <i>Flame Ionization Detector</i>
GC	Plynová chromatografie <i>Gas Chromatography</i>
GC-MS	Plynová chromatografie – hmotnostní spektrometrie <i>Gas Chromatography – Mass spectrometry</i>
GC-O	Plynová chromatografie – olfaktometrie <i>Gas Chromatography – Olfactometry</i>
HS	Headspace
např.	například
nd	nebylo detekováno
PASs	Potencionálně alergenní látky <i>Potentially Allergenic Substances</i>
PLOT	Kapilára s porézní vrstvou na vnitřní stěně kapiláry <i>Porous Layer Open Tubular</i>
popř.	popřípadě
resp.	respektive
SCOT	Kapilára se stacionární fází zakotvenou na nosiči na vnitřní stěně kapiláry <i>Support Coated Open Tubular</i>
SPME	Mikroextrakce tuhou fází <i>Solid-phase microextraction</i>
WCOT	Kapilára se stacionární fází zakotvenou na vnitřní stěně kapiláry <i>Wall Coated Open Tubular</i>
tj.	to je

8 SEZNAM PŘÍLOH

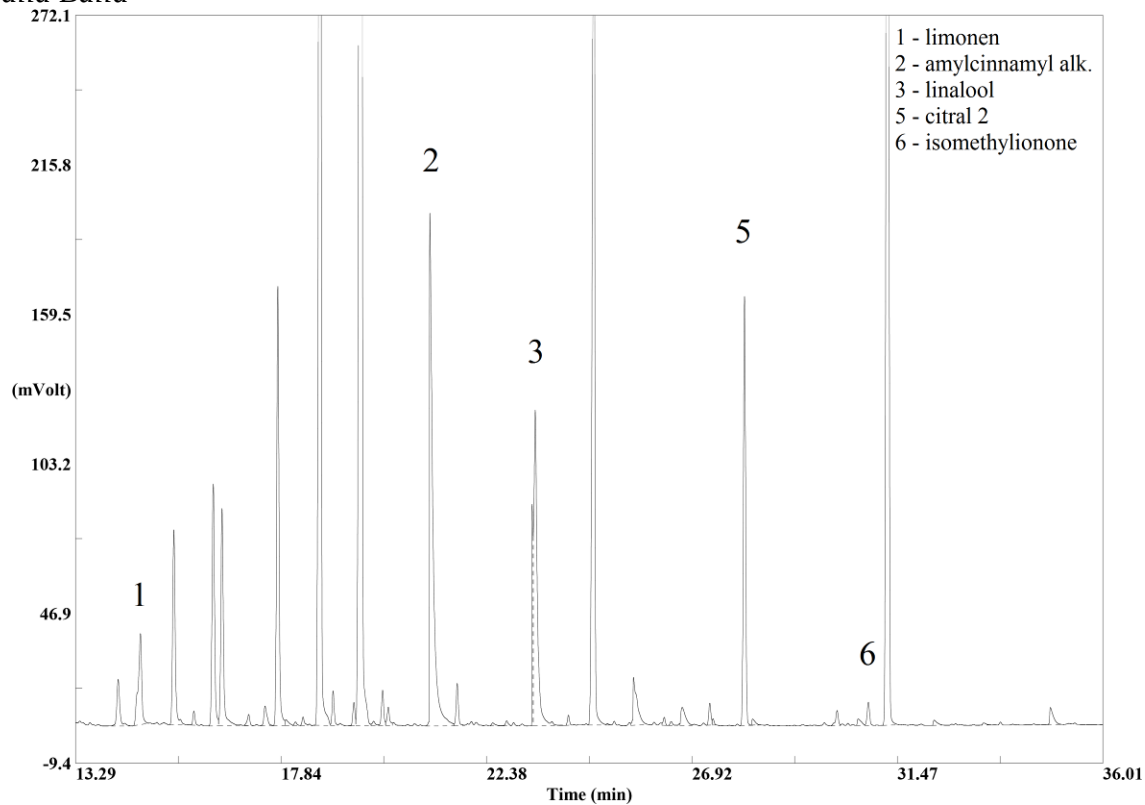
Příloha A	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Albert Kyselé rybičky</i>
Příloha B	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Haribo Balla Balla</i>
Příloha C	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Haribo Šmoulové</i>
Příloha D	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Jojo Dinosauři</i>
Příloha E	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Haribo Chamallows</i>
Příloha F	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Multicolour Belts</i>
Příloha G	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Jojo zmrzlinky</i>
Příloha H	<i>Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Trolli Apfelringe</i>
Příloha I	<i>Dotazník pro senzorické hodnocení bonbónů</i>

9 PŘÍLOHY

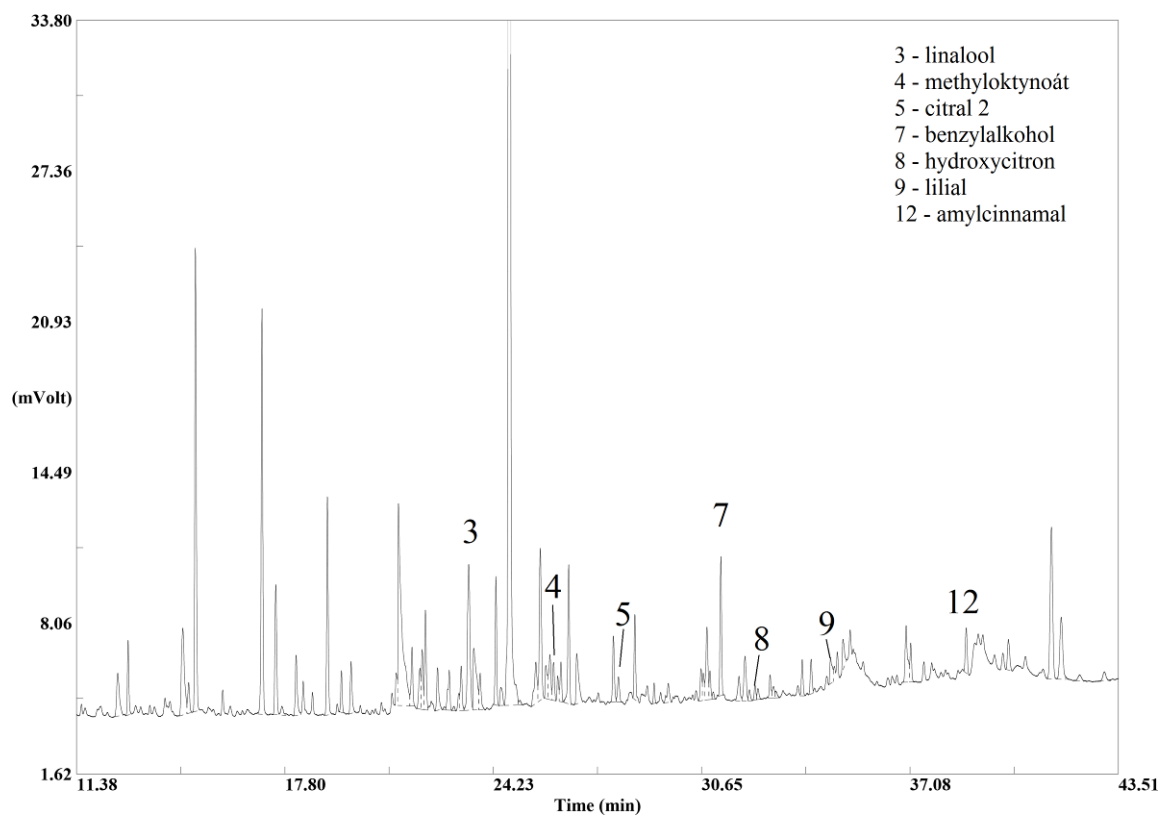
Příloha A Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku *Albert Kyselé rybičky*



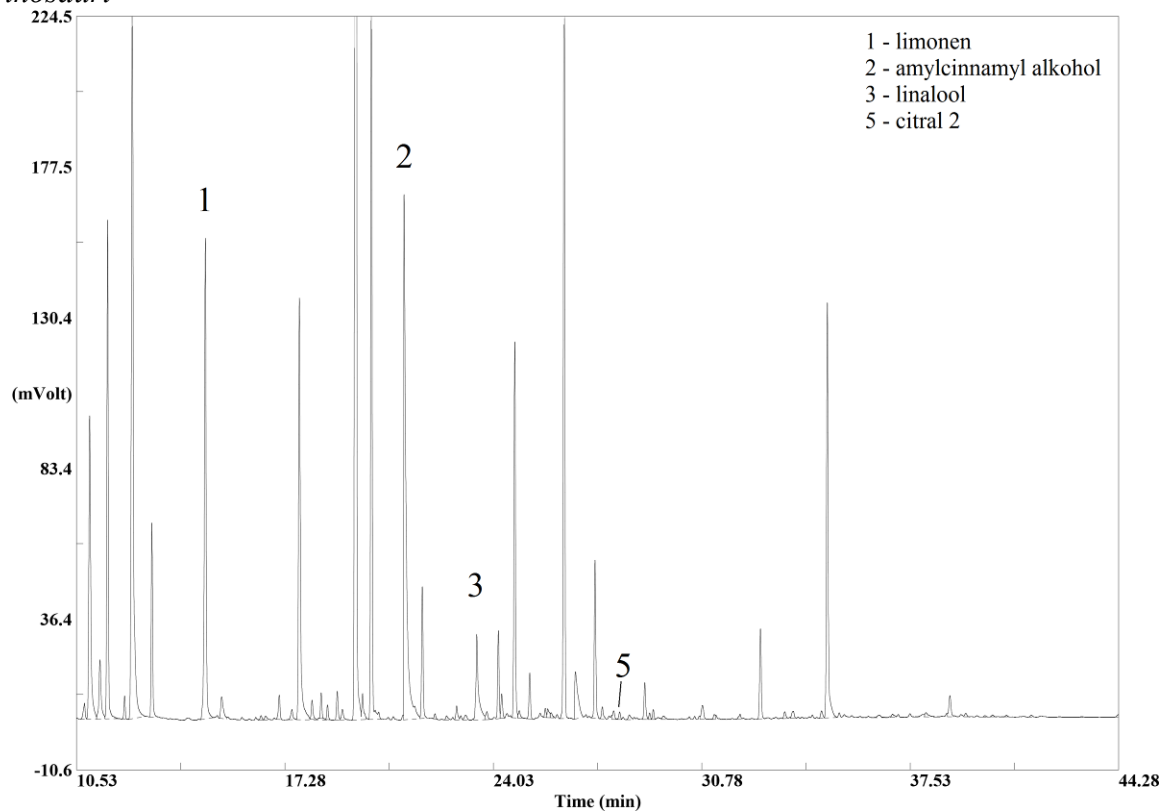
Příloha B Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku *Haribo Balla Balla*



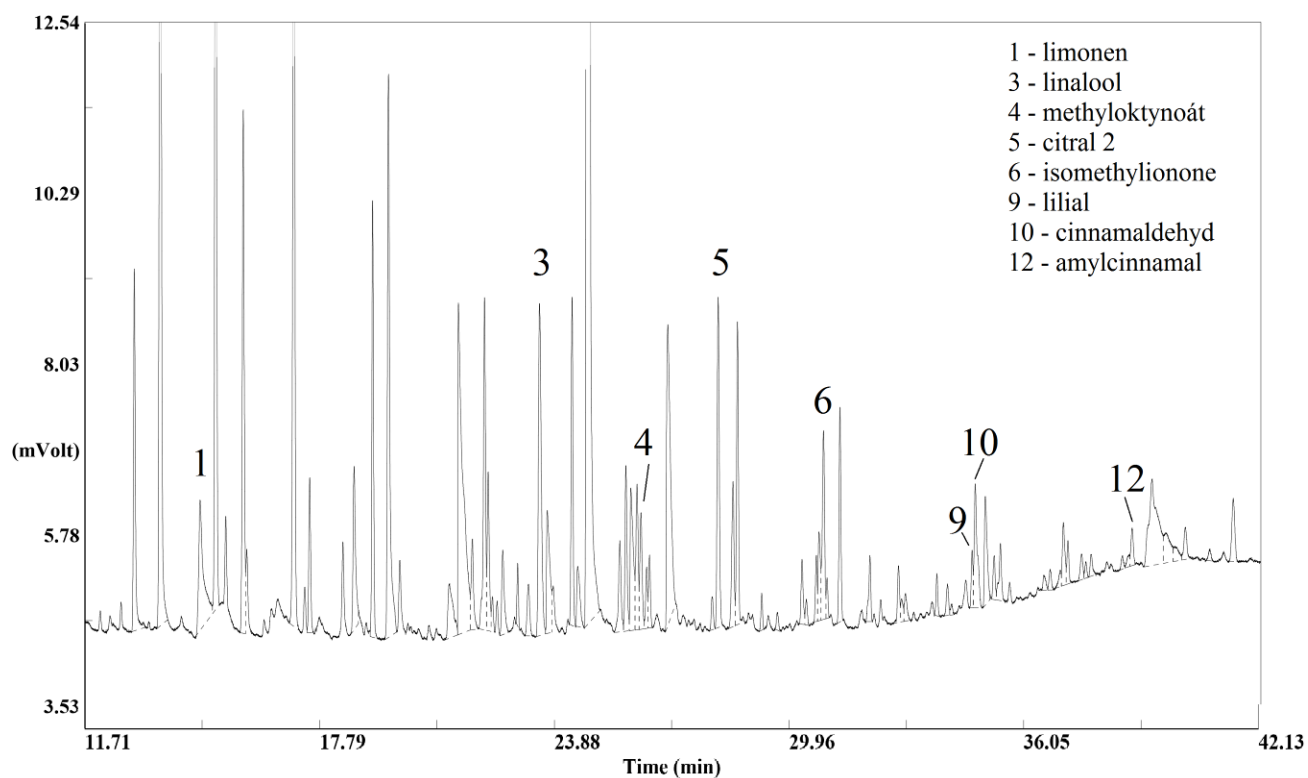
Příloha C Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Haribo Šmoulové



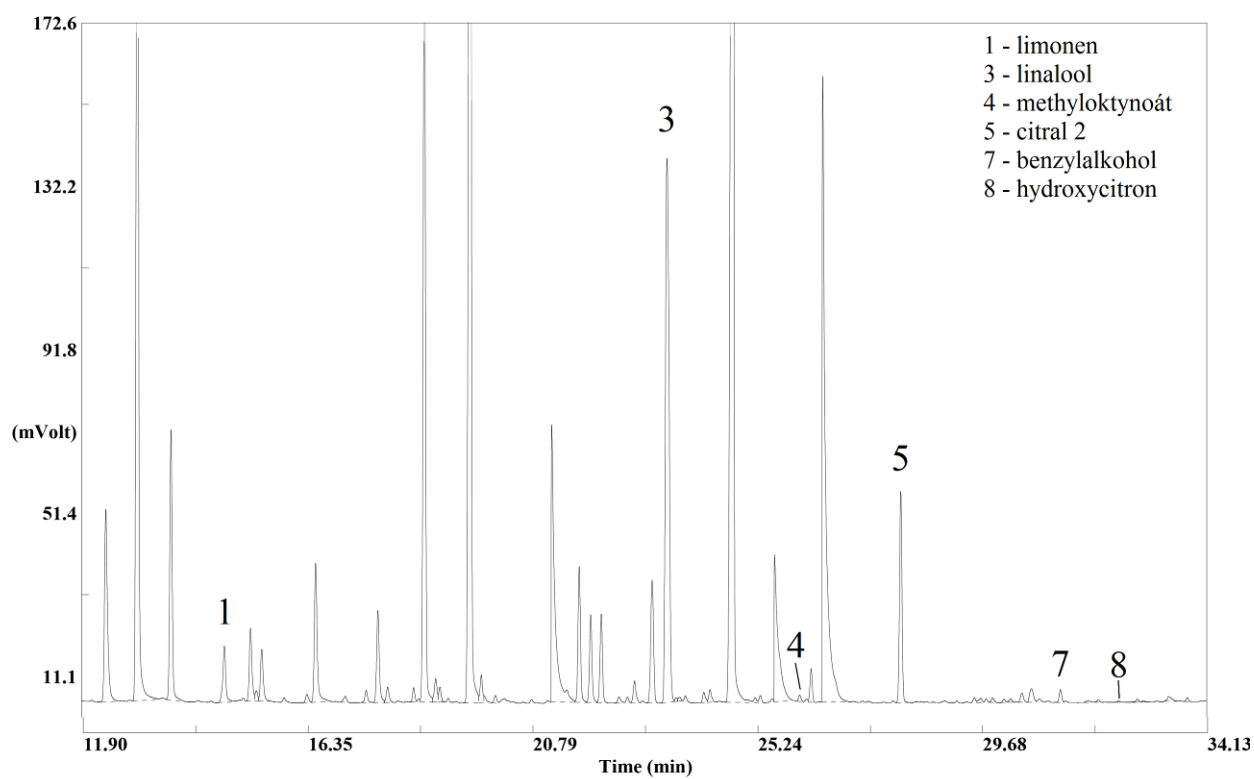
Příloha D Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Jojo Dinosaurů



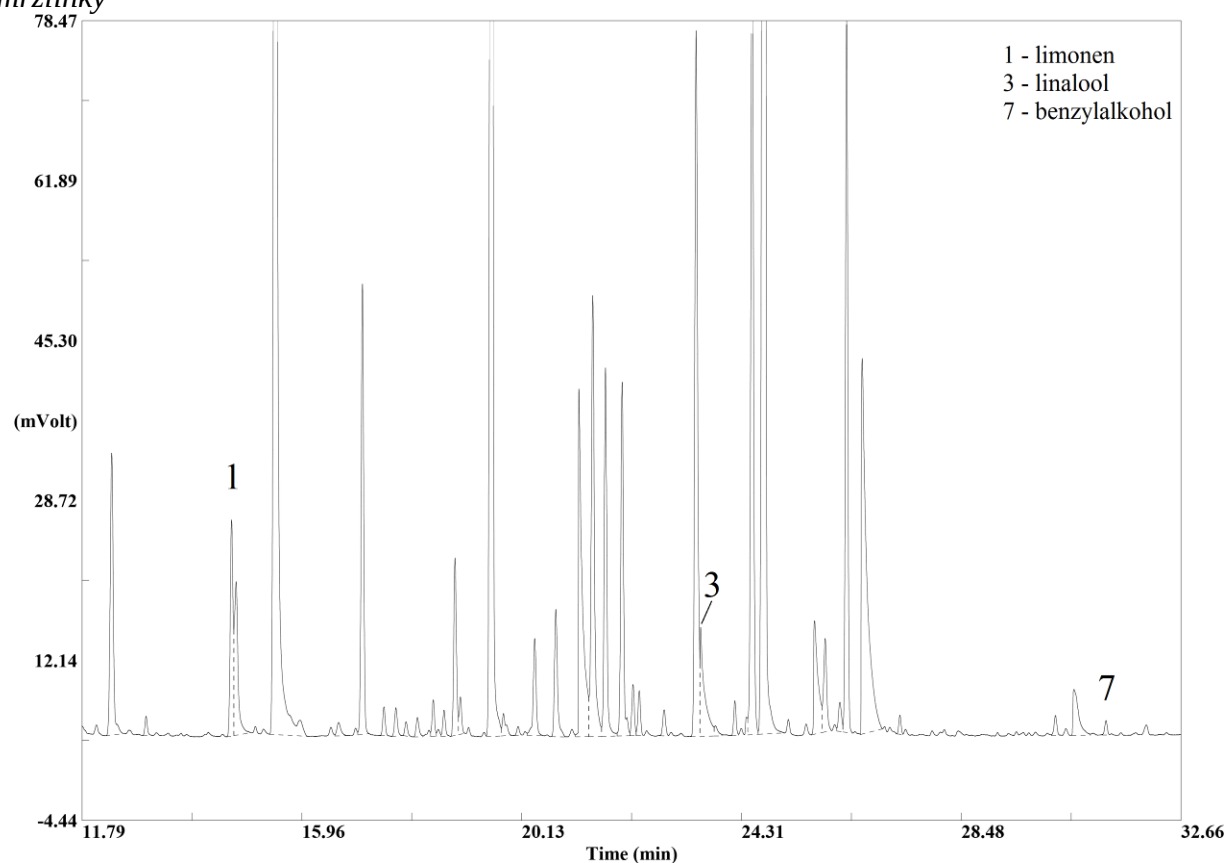
Příloha E Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Haribo Chamallows



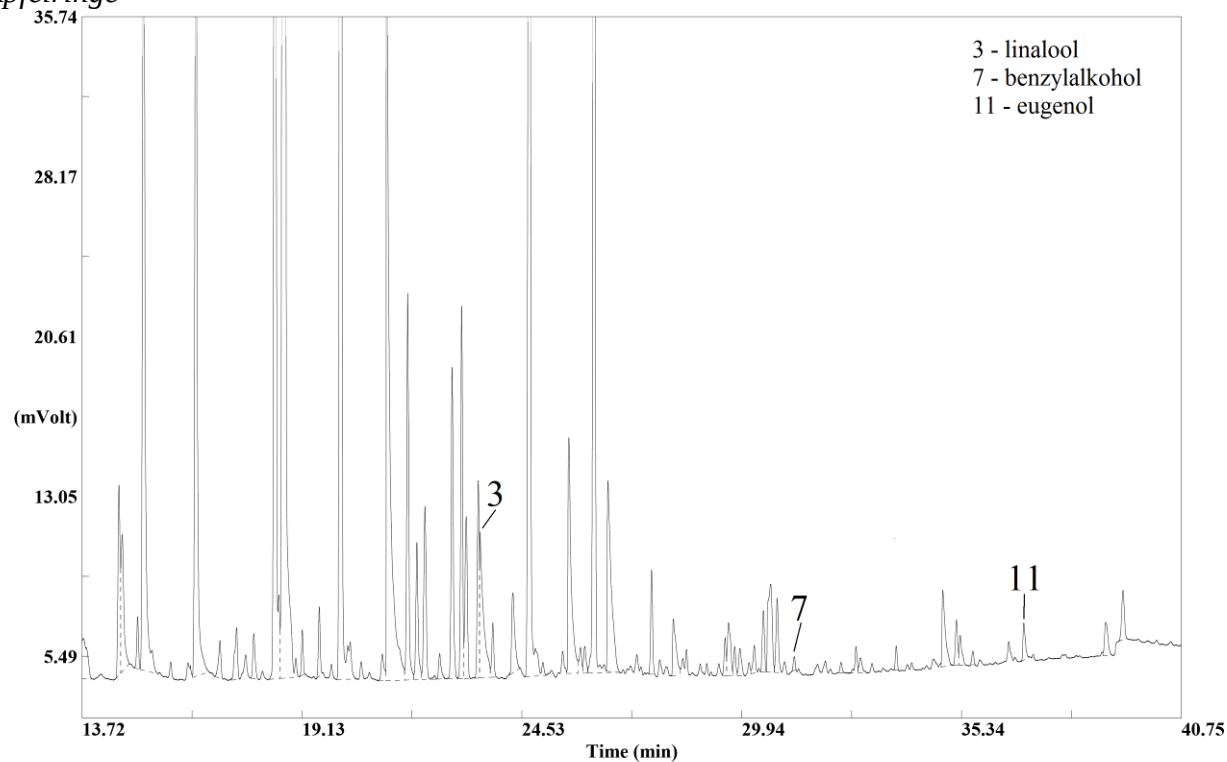
Příloha F Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Multicolour Belts



Příloha G Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Jojo zmrzlinky



Příloha H Chromatogram identifikovaných alergenních vonných látek ve vzorku Trolli Apfelringe



DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ

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

Hodnotitel:

Datum:

Čas:

Zdravotní stav:

kuřák/nekuřák:

Jaké je Vaše stanovisko před ochutnáváním?

- želatinové bonbóny mám velmi rád/a
- želatinové bonbóny nemám příliš rád/a
- želatinové bonbóny nemám vůbec rád/a

1. Zhodnoťte předložené vzorky v následujících znacích (intenzita vůně, příjemnost vůně) podle uvedených stupnic a svá hodnocení запиšte do přiložené tabulky.

Kód vzorku	Intenzita vůně	Příjemnost vůně
A01		

Intenzita vůně:

1. *Neznatelná*
2. *Velmi slabá*
3. *Slabá*
4. *Střední*
5. *Silnější*
6. *Dosti silná*
7. *Velmi silná*

Příjemnost vůně:

1. *Vynikající*
 - výrazná, charakteristická, aromatická, lahodná, harmonická
2. *Výborná*
 - výrazná, charakteristická, aromatická, harmonická, nepatrně se odchyľující od 1
3. *Velmi dobrá*
 - mírné odchylky od stupně „Vynikající“, přesto harmonická, méně výrazná
4. *Dobrá*
 - charakteristická, větší odchylky od stupně „Vynikající“ ne zásadního charakteru
5. *Méně dobrá*
 - málo typická, méně harmonická
6. *Nevyhovující*
 - nevýrazná, prázdná, neutrální
7. *Nepřijatelná*
 - nepříjemná, netypická, výrazně negativní přípach

2. Profilový test vybraných vůní

Posuďte, do jaké míry uvedené dílčí vůně vytvářejí celkový dojem vůně.
Použijte stupnici:

1. *Neznatelná*
2. *Velmi slabá*
3. *Slabá*
4. *Střední*
5. *Silnější*
6. *Dosti silná*
7. *Velmi silná*

Označení vzorku:

Ovocná	1	2	3	4	5	6	7
Sladká	1	2	3	4	5	6	7
Kyselá	1	2	3	4	5	6	7
Jiná, příjemná (uved'te jaká)	1	2	3	4	5	6	7
↳							
Jiná, nepříjemná (uved'te jaká)	1	2	3	4	5	6	7
↳							

3. Zhodnoťte předložené vzorky v následujících znacích (intenzita chutě, příjemnost chutě) podle uvedených stupnic a svá hodnocení zapište do přiložené tabulky.

Kód vzorku	Intenzita chutě	Příjemnost chutě
A01		

Intenzita chutě:

1. *Neznatelná*
2. *Velmi slabá*
3. *Slabá*
4. *Střední*
5. *Silnější*
6. *Dosti silná*
7. *Velmi silná*

Příjemnost chutě:

1. *Vynikající*
 - výrazná, charakteristická, aromatická, lahodná, harmonická
2. *Výborná*
 - výrazná, charakteristická, aromatická, harmonická, nepatrně se odchylojící od 1
3. *Velmi dobrá*
 - mírné odchylky od stupně „Vynikající“, přesto harmonická, méně výrazná
4. *Dobrá*
 - charakteristická, větší odchylky od stupně „Vynikající“ ne zásadního charakteru

5. *Méně dobrá*
 - málo typická, méně harmonická
6. *Nevyhovující*
 - nevýrazná, prázdná, neutrální
7. *Nepřijatelná*
 - nepříjemná, netypická, výrazně negativní pachut'

4. Profilový test vybraných chutí

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

1. *Neznatelná*
2. *Velmi slabá*
3. *Slabá*
4. *Střední*
5. *Silnější*
6. *Dosti silná*
7. *Velmi silná*

Označení vzorku:

Charakteristická (uved'te jaká)	1	2	3	4	5	6	7
Ovocná	1	2	3	4	5	6	7
Sladká	1	2	3	4	5	6	7
Kyselá	1	2	3	4	5	6	7
Umělá (po plastech)	1	2	3	4	5	6	7
Jiná, příjemná (uved'te jaká)	1	2	3	4	5	6	7
↳							
Jiná, nepříjemná (uved'te jaká)	1	2	3	4	5	6	7
↳							

Zkuste odhadnout v časových intervalech uvedených níže doznívání intenzity charakteristické (příjemné) chuti

po 30 sekundách	1	2	3	4	5	6	7
po 60 sekundách	1	2	3	4	5	6	7
po 2 minutách	1	2	3	4	5	6	7
po 3 minutách	1	2	3	4	5	6	7

Zkuste odhadnout v časových intervalech uvedených níže doznívání nepříjemné chuti

po 30 sekundách	1	2	3	4	5	6	7
po 60 sekundách	1	2	3	4	5	6	7
po 2 minutách	1	2	3	4	5	6	7
po 3 minutách	1	2	3	4	5	6	7

Jiné pocity v ústech po 3 minutách (uved'te jaké):

.....