

# **Chromatografické stanovení aromatických látek karagenanových přípravků**

Bc. Jarmila Perutková

---

Diplomová práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jarmila PERUTKOVÁ**  
Osobní číslo: **T11064**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Chromatografické stanovení aromatických látek karagenanových přípravků**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Karagenany – chemická struktura a typ karagenanových přípravků, technologie výroby, využití v potravinářství
2. Aromatické látky a princip plynové chromatografie
3. Charakteristika a popis metod senzorické analýzy

### II. Praktická část

1. Chromatografické stanovení aromatických látek metodou HS- GC/MS
2. Senzorické hodnocení masných výrobků s přídavkem karagenanů
3. Diskuze výsledků a formulace závěrů

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. PHILLIPS, G. O., WILLIAMS P. A. Handbook of hydrocolloids. 1. vyd. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2000, 420 s. ISBN 1 85573 501 6.
2. TARTÉ, R. Ingredients in meat products: Properties, Functionality and Applications. 1.vyd. Wisconsin: Springer Science and Business Media LLC, 2009, 419 s. ISBN 978-0-387-71326-7.
3. De VRIES, J. Gums and Stabilizers for the food industry: Hydrocolloid gelling agents and their application. 294 vyd. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2004, 603 s. ISBN 0-85404-891-X.
4. KLOUDA, P. Moderní analytické metody. 2.vyd. Ostrava: P. Klouda, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
5. KÖNIG, W. A., HOCHMUTH H. D. Enantioselective Gas Chromatography in Flavor and Fragrance Analysis: Strategies for the Identification of Known and Unknown Plant Volatiles. Journal of Chromatographic Science, 2004, 42, 423 - 439. ISSN - 1945-239.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Helena Velichová, Ph.D.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**11. února 2013**

Termín odevzdání diplomové práce:

**17. května 2013**

Ve Zlíně dne 11. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 2. 5. 2013

.....

---

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

- Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.
- Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.
- Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

<sup>1</sup> Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

1. Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.
2. Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.
3. Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihledne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce je zaměřena na stanovení aromatických látek přítomných v karagenanových přípravcích. Teoretická část popisuje chemickou strukturu karagenanů a vliv struktury na reologické vlastnosti. Zaměřuje se na jednotlivé typy karagenanů, jejich získávání, výrobu, zpracování a využití v potravinářství. Definiuje aromaticky aktivní látky a popisuje princip plynové chromatografie a metody senzoričké analýzy.

Praktická část popisuje senzoričkou analýzu masných výrobků, ve kterých byly použity karagenanové přípravky. Je zde uveden postup a výsledky chromatografického stanovení aromatických látek v karagenanových přípravcích.

Klíčová slova: karagenany, silice, vonné látky, plynová chromatografie, senzoričká analýza, trojúhelníková zkouška

## **ABSTRACT**

The thesis is focused on the determination of aromatic substances present in the carrageenan products. The theoretical part describes chemical structure of carrageenans and its influence on the rheological properties. It is focused on different types of carrageenans, their manufacturing and use in the food industry. Thesis defines aromatic substances and describes the principle of gas chromatography and methods of sensory analysis.

The practical part gives an account of sensory analysis of meat product with addition of carrageenan. There is defined the process of chromatographic determination of aromatic compounds in carrageenan products and particular components, which have been determined in carrageenan preparations, are described.

Keywords: carrageenans, essential oils, fragrances, gas chromatography, sensory analysis, triangle test

Mé díky patří především vedoucí diplomové práce Ing. Heleně Velichové, Ph.D za cenné rady, připomínky a čas věnovaný vedení mé diplomové práce. Ráda bych také poděkovala společnosti TRUMF International s.r.o, za svolení vypracovat mou diplomovou práci v této společnosti, a všem zaměstnancům, kteří se svými radami podíleli na jejím vypracování.

„Nic není více nesnesitelné, než si přiznat vlastní chybu.“ Ludwig van Beethoven

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka. Zároveň prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>I TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>10</b>
<b>1 KARAGENANY .....</b>	<b>12</b>
<b>1.1 DRUHY KARAGENANŮ.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2 CHEMICKÁ STRUKTURA A VLASTNOSTI.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3 TECHNOLOGIE VÝROBY.....</b>	<b>15</b>
<b>1.4 VYUŽITÍ V POTRAVINÁŘSTVÍ.....</b>	<b>17</b>
1.4.1 MLÉČNÉ VÝROBKY .....	17
1.4.2 MASNÉ VÝROBKY .....	17
1.4.3 OSTATNÍ .....	18
<b>2 AROMATICKY AKTIVNÍ LÁTKY .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 PŘÍRODNÍ VONNÉ LÁTKY.....</b>	<b>20</b>
2.1.1 SILICE .....	20
<b>2.2 SYNTETICKÉ VONNÉ LÁTKY.....</b>	<b>20</b>
2.2.1 UHLOVODÍKY.....	21
2.2.2 ALKOHOLY .....	21
2.2.3 ETHERY .....	21
2.2.4 KARBONYLOVÉ SLOUČENINY .....	21
2.2.5 FENOLOVÉ SLOUČENINY .....	23
2.2.6 SÍRNÉ SLOUČENINY .....	23
2.2.7 DUSÍKATÉ LÁTKY.....	23
<b>2.3 STANOVENÍ AROMATICKÝCH LÁTEK.....</b>	<b>23</b>
<b>3 PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 INSTRUMENTACE.....</b>	<b>26</b>
3.1.1 ZDROJ NOSNÉHO PLYNU .....	26
3.1.2 ČISTÍCÍ ZAŘÍZENÍ .....	27
3.1.3 REGULAČNÍ SYSTÉM .....	27
3.1.4 DÁVKOVAČ.....	27
3.1.5 KONCENTRÁTOR .....	29
3.1.6 KOLONA .....	29
3.1.7 DETEKTOR .....	30
3.1.8 VYHODNOCOVACÍ ZAŘÍZENÍ .....	32
3.1.9 TERMOSTAT .....	32
<b>4 METODY SENZORICKÉ ANALÝZY .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 SMYSLOVÉ VNÍMÁNÍ.....</b>	<b>33</b>



4.1.1	CHUŤ .....	33
4.1.2	ČICH .....	34
4.1.3	ZRAK .....	34
4.1.4	SLUCH.....	34
4.1.5	HMAT .....	34
<b>4.2</b>	<b>SENZORICKÁ LABORATOŘ A HODNOTITELÉ.....</b>	<b>34</b>
4.2.1	SENZORICKÁ LABORATOŘ .....	34
4.2.2	SENZORICKÝ PANEL .....	35
4.2.3	VZOREK A JEHO HODNOCENÍ.....	36
4.2.4	ROZLIŠOVACÍ ZKOUŠKY PŘI SENZORICKÉM POSUZOVÁNÍ POTRAVIN.....	37
<b>4.3</b>	<b>TROJÚHELNÍKOVÝ TEST.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4</b>	<b>SENZORICKÁ ANALÝZA A METODY INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY ..</b>	<b>38</b>
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>39</b>
<b>5</b>	<b>CÍL PRÁCE.....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>MATERIÁL A PŘÍSTROJE .....</b>	<b>41</b>
<b>6.1</b>	<b>CHARAKTERISTIKA VZORKŮ .....</b>	<b>41</b>
<b>6.2</b>	<b>POMŮCKYA PŘÍSTROJE .....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>METODIKA STANOVENÍ.....</b>	<b>46</b>
<b>7.1</b>	<b>SENZORICKÁ ANALÝZA .....</b>	<b>46</b>
7.1.1	SENZORICKÉ HODNOCENÍ SAMOSTATNÝCH ŠARŽÍ .....	46
7.1.2	SENZORICKÉ HODNOCENÍ MASNÝCH VÝROBKŮ.....	46
<b>7.2</b>	<b>CHROMATOGRAFICKÉ STANOVENÍ A PODMÍNKY ANALÝZY.....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>50</b>
<b>8.1</b>	<b>VYHODNOCENÍ SENZORICKÉ ANALÝZY .....</b>	<b>50</b>
<b>8.2</b>	<b>VÝSLEDKY CHROMATOGRAFICKÉHO STANOVENÍ .....</b>	<b>54</b>
8.2.1	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ ANALÝZY KARAGENANOVÝCH PŘÍPRAVKŮ .....	59
8.2.2	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ ANALÝZY PŘÍPRAVKU RICOGEL .....	67
<b>ZÁVĚR.....</b>		<b>75</b>

## ÚVOD

Karagenany jsou vysokomolekulární lineární polysacharidy získávané extrakcí z červených mořských řas třídy *Rhodophyceae*. Rostou především v oblastech Tichého oceánu, Filipín, Indonésie či při pobřeží severního Atlantiku. Technologickým postupem je z řas získáván nerozpustný  $\kappa$ -karagenan a rozpustný  $\lambda$ -karagenan. V potravinářství jsou karagenany používány jako zahušťovadla, želírující látky, stabilizátory a emulgační činidla.

Vonné látky jsou přírodní nebo syntetické směsi těkavého charakteru. Jsou – li v potravině obsaženy přirozeně, jedná se o látky primární, vznikají – li enzymatickými a chemickými pochody, jsou sekundární. Zdrojem přírodních vonných látek jsou zejména rostliny, jež obsahují silice. Významnými typy vonných látek jsou například aldehydy, ketony, terpenové uhlovodíky aj.

V potravinách jsou vonné látky obsaženy v nízkých koncentracích, ale ve velkém počtu. Vůně potravin je určena až komplexním vjemem všech obsažených vonných látek. Pokud vonné látky působí zároveň na chuťové a čichové receptory, označují se jako aromatické látky.

Pro stanovení těkavých aromatických látek v potravinách je používána, mimo jiné, i metoda plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) nebo olfaktometrií (GC/O).

Diplomová práce se zabývá stanovením aromatických látek v karagenanových přípravcích a jejich vlivem na organoleptické vlastnosti v potravinách. Je zaměřena na aromatické látky obsažené v problematické šarži jednoho z přípravků. V teoretické části je popsána chemická struktura karagenanů a její vliv na reologické vlastnosti. Je zde uveden proces získávání a výroby karagenanů a využití přípravků v potravinářství. Dále popisuje princip plynové chromatografie a metody senzorní analýzy. Praktická část je zaměřena na senzorní analýzu masných výrobků, ve kterých jsou použity karagenanové přípravky a na chromatografické stanovení aromatických látek v karagenanových přípravcích.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 KARAGENANY

Karagenany jsou extrakty z červených mořských řas rodů *Euchema*, *Chondrus* a *Gigartina*. Jednotlivé rody řas se vzájemně liší strukturou, která značně souvisí s jejich původem. Rostou především v mělkých vodách Filipín, Indonésie a v tropických oblastech Tichého oceánu či podél pobřeží severního Atlantiku [1, 2, 3, 4].

Dle Nařízení ES č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, je karagenanům přiřazen kód E 407. V potravinářství se nejčastěji používají jako zahušťovadla, stabilizátory nebo želírující látky. Kromě toho jsou karagenany také využívány ve farmaceutických přípravcích a kosmetice [5, 6, 7].

Tři hlavní kopolymery karagenanů jsou v závislosti na jejich struktuře označovány jako  $\kappa$ ,  $\iota$  a  $\lambda$  [9, 10].

### 1.1 Druhy karagenanů

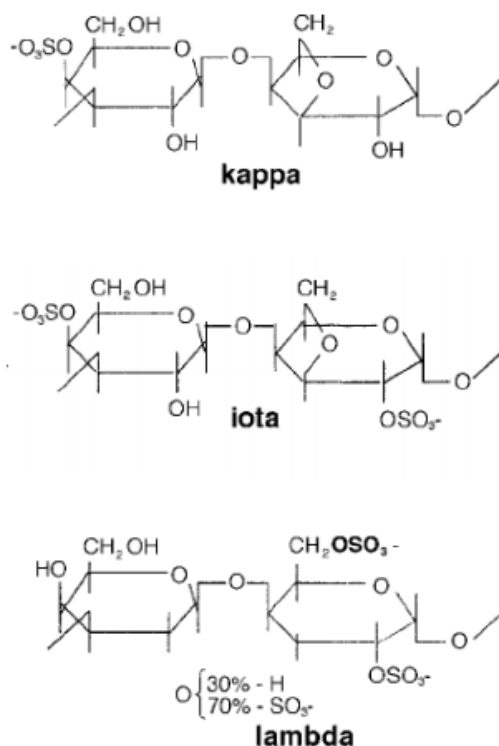
V molekulách karagenanů je známo několik druhů sekvencí monomerů, označených malými písmeny řecké abecedy  $\beta$ ,  $\theta$ ,  $\iota$ ,  $\kappa$ ,  $\lambda$ ,  $\mu$ ,  $\nu$ ,  $\xi$ . V potravinářském průmyslu našly uplatnění především  $\iota$ ,  $\kappa$  a  $\lambda$  karagenany. Podle přání a požadavků zákazníka je možné jednotlivé druhy kombinovat [3, 4, 11].

Pipek uvádí dělení karagenanů, jejichž kombinace se užívá v komerčních preparátech:

1.  $\iota$  – karagenan,
2.  $\kappa$  – karagenan,
3.  $\lambda$  – karagenan [10].

Rozdíl mezi jednotlivými frakcemi karagenanů je v odlišném počtu a poloze sulfátových skupin na základní struktuře. Sulfátová skupina, jež má záporný náboj, má největší vliv na vlastnosti karagenanů a zodpovídá za jejich vaznost.  $\iota$ -karagenan obsahuje 2 sulfátové skupiny,  $\kappa$ -karagenan obsahuje pouze 1 sulfátovou skupinu.  $\lambda$ -karagenan ve své molekule obsahuje 3 sulfátové skupiny, ale neobsahuje 3,6-anhydrogalaktosu [3, 7, 20, 27].

Strukturu jednotlivých druhů karagenanů zobrazuje obrázek č. 1.



Obr. 1 Chemické vzorce jednotlivých druhů  
karagenanů [1]

## 1.2 Chemická struktura a vlastnosti

Karagenany jsou vysokomolekulární lineární polysacharidy, tvořené opakujícími se sekvencemi  $\beta$ -D-galaktopyranosy a 3,6-anhydro- $\alpha$ -D-galaktopyranosy, spojenými  $\beta$ -1,3 a  $\beta$ -1,4 glykosidickými vazbami. Vzniklý disacharid se nazývá karabiosa [11, 14, 53].

Rozpustnost karagenanů je závislá nejen na druhu karagenanu, teplotě a pH prostředí, ale i na poměru hydrofilních hydroxilových a sulfátových skupin a hydrofobních 3,6-anhydro-D-galaktosových zbytků.  $\lambda$ -karagenan je kvůli vysokému obsahu sulfátových skupin velmi dobře rozpustný a tvoří viskózní roztoky, ale netvoří gel.  $\kappa$ -karagenan je méně rozpustný a tvoří gel, protože obsahuje více hydrofobních a méně hydrofilních skupin.  $\iota$ -karagenan je přechodem mezi  $\lambda$  a  $\kappa$ -karagenanem [5, 11].

S výjimkou  $\lambda$ -karagenanu jsou všechny karagenany rozpustné ve vodě.  $\iota$  a  $\kappa$ -karagenan jsou rozpustné ve studené vodě. Všechny karagenany jsou rozpustné v horkém mléce, ale pouze  $\lambda$ -karagenan je rozpustný i ve studeném mléce [37].

Karagenany jsou stabilní v rozmezí pH 5 – 10. V prostředí s nižším pH podléhají hydrolyze a viskozita disperzí klesá [4].

Roztoky karagenanů jsou viskózní. Při vysokých teplotách vykazují nízkou viskozitu, jak ve vodě, tak v mléce. Proto je teplota důležitým faktorem při rozhodování, který druh karagenanu by měl být v potravinách použit. Při ochlazování tvoří různé gelové struktury v závislosti na kationtech, popř. dalších přítomných složkách [37].

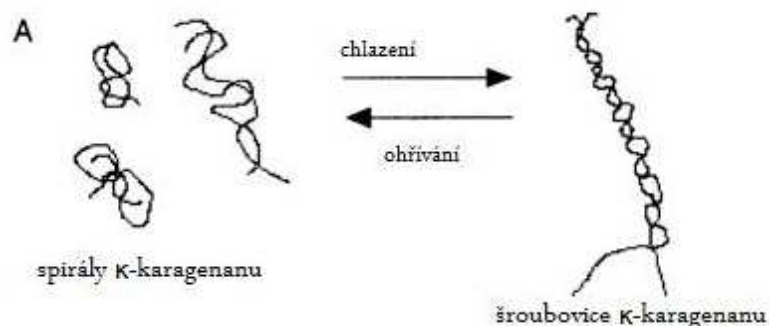
K vytvoření pevných a zároveň křehkých gelů je nutná přítomnost neutralizujících iontů. V přítomnosti  $K^+$ ,  $Rt^+$  a  $Cs^+$  tvoří  $\kappa$ -karagenan jasný a pružný gel, v přítomnosti  $Li^+$  a  $Na^+$  gel netvoří. Dvojmocné ionty ( $Ca^{2+}$ ) jsou příčinou kalných a křehkých gelů u  $\kappa$ -karagenanů a slabých gelů u  $\iota$ -karagenanů. S rostoucí koncentrací některých kationtů roste síla i gelu u  $\iota$  a  $\kappa$ -karagenanů, ovšem pouze do určité koncentrace daného kationtu. Při překročení limitní koncentrace může síla gelů klesat, při extrémním překročení může být celý systém destabilizován. Síla gelu ve výrobcích roste i po přidání množství karagenanu, ale i zde je limitní koncentrace, při jejímž překročení hrozí destabilizace gelu [33, 38, 39, 53].

Pro vytvoření stabilního gelu byla vytvořena tzv. kritická hustota náboje mezi sulfátovými skupinami, jejíž hodnota je 0,5 nm. Vzdálenost mezi sulfátovými skupinami u  $\iota$ -karagenanů je 0,5 – 0,2 nm, u  $\kappa$ -karagenanů je 1,0 – 0,4 nm a u  $\lambda$ -karagenanů je vzdálenost 0,3 nm [27, 32].

Tvorba gelu probíhá ve dvou fázích a je podmíněna asociací helikálních struktur. V první fázi vzniknou šroubovice, které ve druhé fázi agregují a vzniká tak trojrozměrná síť [38].

Molekuly  $\iota$  a  $\kappa$ -karagenanů obsahují molekuly 3,6-anhydrogalaktosy, jejichž spojením se tvoří šroubovice. V molekule  $\lambda$ -karagenanů není 3,6-anhydrogalaktosa obsažena.  $\lambda$ -karagenan šroubovici zodpovědnou za gel netvoří kvůli tzv. cik - cak konformaci sulfátových skupin. Gely vznikají po ochlazení již 0,5 % disperze  $\iota$  nebo  $\kappa$ -karagenanů, přičemž  $\kappa$ -karagenany tvoří pevný a křehký gel podléhající synerezi a  $\iota$ -karagenany tvoří pevné a soudržné gely u kterých k synerezi nedochází [5, 28, 29, 30, 53].

Na obrázku č. 2 je znázorněna tvorba šroubovice u  $\kappa$ -karagenanu.



Obr. 2 Tvorba šroubovice u  $\kappa$ -karagenanu [2]

### 1.3 Technologie výroby

Výrobní proces karagenanů začíná výběrem vhodných mořských řas. Mořské řasy se po sklizni perou ve vodě, aby došlo k odstranění nečistot, písku a kamenů. Zamezení mikrobiální kontaminace je docíleno rychlým usušením řas. Následuje extrakce, nejčastěji v alkalickém prostředí, horkými roztoky sodných solí ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaOH}$ ). Kyselé karagenany se získávají okyselením  $\text{HCl}$  [1, 11, 14, 17].

Zbytky řas jsou z extraktu odstraněny filtrací nebo centrifugací. 1 - 2% roztok karagenanu je filtrován skrz porézní křemičitanový filtr a přefiltrované roztoky jsou před srážením zahušťovány. Zakoncentrování probíhá na vícestupňové vakuové odparce na konečnou koncentraci 2-3 % [14].

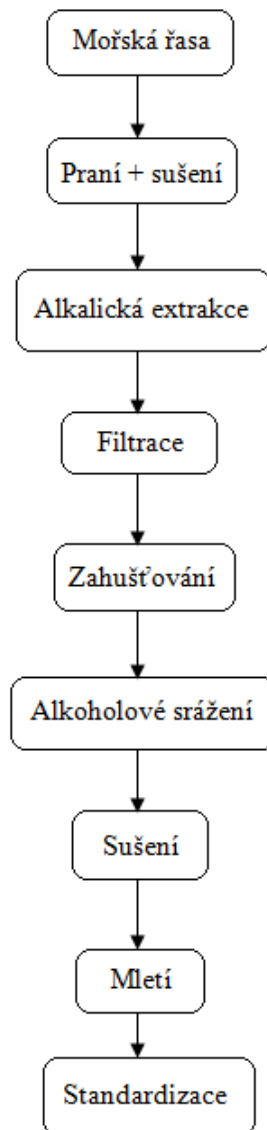
Sušením nebo srážením rozpouštědly je získán finální produkt. Většina karagenanů je srážena přidáním alkoholu. Po přidání 2 - propanolu vzniká z karagenanů vláknitá sraženina, která je oddělena a lisována, aby se odstranila přebytečná vlhkost. Alkohol je odstraněn destilací [14, 20].

Fracionovat karagenany lze také srážením draselnými solemi (např. 0, 25 M  $\text{KCl}$ ). Výsledná draselná sůl  $\kappa$ -karagenanu je špatně rozpustná ve studené vodě, draselná sůl  $\iota$ -karagenanu je rozpustná při teplotách nad  $60^\circ\text{C}$ , a sůl  $\lambda$ -karagenanu je rozpustná. Z některých druhů řas je možné získat téměř čisté karagenany, např. z řas *Euchema cottonii*  $\iota$ -karagenan, z *Euchema spinosum*  $\kappa$ -karagenan a z *Chondrus crispus* je získáván  $\lambda$ -karagenan [11, 14, 17].

Sušení karagenanů srážených alkoholem se uskutečňuje buď ve vakuových odparkách, nebo zavedením inertního plynu. Oba způsoby předchází vznícení. Sraženiny způsobené KCl mohou být sušeny vzduchem. Využívá se i přímé válcové sušení [14].

Jelikož se kvalita řas pro výrobu karagenanu může lišit, je vzniklý produkt variabilní. Standardizace karagenanů pro potravinářské účely se běžně provádí přidáním sacharosy nebo dextrosy, či smícháním produktů různých stupňů kvalit. Komerční druhy karagenanů mohou obsahovat různá množství přídatných látek, například soli pufru nebo látky pro podporu želírování (např. KCl) [14].

Na obrázku č. 3 je znázorněno schéma výroby karagenanů z mořských řas.



Obr. 3 Schéma výroby karagenanů z mořských řas



Jsou vyráběny dva typy karagenanů – rafinované a polorafinované. U rafinovaných karagenanů dochází filtrací k odstranění celulóзовých zbytků. Důsledkem toho vytváří rafinované karagenany čisté gely. U polorafinovaných karagenanů nejsou celulóзовé zbytky odstraněny a jejich gel je kalný [68].

## 1.4 Využití v potravinářství

V potravinářském průmyslu mají karagenany uplatnění jako zahušťovadla, želírující látky, stabilizátory a emulgátory. Využívají se především v mlékárenském průmyslu při výrobě tavených sýrů, mléčných desertů, nápojů, zmrzlin apod., ale také v masném průmyslu při výrobě masových konzerv. Uplatnění našly karagenany i v ostatních oborech, např. v kosmetice, pro stabilizaci průmyslových suspenzí či při výrobě barev [1, 11].

### 1.4.1 Mléčné výrobky

V mléčných výrobcích je karagenan uplatňován kvůli schopnosti tvořit komplexy s mléčnými bílkovinami. Používají se do mléčných produktů jako zahušťovadla, gelotvorné látky, stabilizátory a emulgátory. V mléku tvoří gely při mnohem nižších koncentracích ve srovnání s ostatními želírujícími látkami. Zvyšují viskozitu výrobku a tím zabraňují usazování pevných či ne zcela rozpuštěných složek a zabraňují vyvstávání tuku. Nízké pH u zakysaných mléčných produktů a jogurtů zvyšuje interakci mezi karagenanem a proteiny, a tím dochází k produkci nestabilních bílkovinných agregátů, které koagulují a následně se oddělí [1, 35, 62, 69].

U desertů na bázi mléka a vody či u mražených krémů zvyšují vaznost vody a během doby skladování brání jejímu uvolňování [1].

Při výrobě sýrů se karagenany využívají pro zlepšení technologických vlastností (prevence lepidlosti obalů u roztíratelných sýrů) [53].

### 1.4.2 Masné výrobky

Karagenany jsou používány do všech masných výrobků, jako jsou drobné masné výrobky, měkké masné výrobky, šunky, uzená masa atp. V masném průmyslu jsou běžně používány polorafinované karagenanové přípravky. Karagenan je používán jako želírující látka u kon-

zervovaného masa a u mělněných masných výrobků umožňuje snížení obsahu tuku. Ve vařených masných výrobcích je karagenan používán ke zlepšení vodovaznosti a krájitelnosti. Běžné dávky karagenanů v masných výrobcích činí 0,3 až 0,7 % [4, 25, 40].

Nejčastější využití při výrobě mělněných masných výrobků mají  $\iota$  a  $\kappa$ -karagenany. Zejména pro svou vodovaznost a pozitivní vliv na výtěžnost a texturu jsou používány u výrobků, kde je vyžadována dobrá krájitelnost.  $\kappa$ -karagenan zlepšuje vlastnosti masa při zpracování, eliminuje ztráty vzniklé tepelným opracováním a zvyšuje schopnost vázat vodu [24, 25].

Použitím karagenanu v masných výrobcích je možné snížit obsah tuku a zlepšit stabilitu rosolu při vyšších teplotách. Svou dobrou vazností vody a pevností vzniklého gelu mohou být krájitelné i při 30 °C. Karagenany jsou používány jako náhrady želatiny u potravin, kde je zpracováním při vysokých teplotách negativně ovlivněna rosolotvorná schopnost želatiny, což by způsobilo nedostatečnou pevnost při krájení [10].

Další významné použití karagenanů je při nastříkávání masa. Karagenany jsou v láku rozptýleny, aniž by tvořili příliš viskózní roztok, ale zároveň tvoří po uvaření šunky gel [62].

U zmražených tučných ryb a chlazené drůbeže se používají ve formě prášků tvořící povlaky, které prodlužují trvanlivost suroviny [1, 36].

Při aplikaci karagenanů do masných výrobků vykazují největší výhody  $\iota$  a  $\kappa$ -karagenany. Představují zahušňovač a modifikátory textury [17].

### 1.4.3 Ostatní

Interakce karagenanu a bílkovin se využívá při pasteraci piva, kdy vznikají agregáty bílkovin, které se odstraní filtrací či odstředěním. Takto se zabrání kalnému vzhledu výrobku [1, 35].

## 2 AROMATICKY AKTIVNÍ LÁTKY

Aromaticky aktivní látky (AAL) jsou veškeré vonné a chuťové látky, které jsou v potravinách přítomny buď přirozeně, nebo vznikají během zpracování. Jedná se o převážně málo polární nebo nepolární těkavé látky vyvolávající různé sensorické vjemy. Působí – li na čichové receptory, vyvolávají dojem vůně a působí – li zároveň i na chuťové receptory, jsou označovány jako aromatické látky. V potravinách jsou obvykle přítomny v nízkých koncentracích, ale ve velkém počtu a jejich komplexním vjemem je dána vůně potravin. Výsledné aroma potravin je tedy tvořeno několika vonnými sloučeninami. Zřídka lze typické aroma potraviny přisuzovat jedné či několika málo sloučeninám, tzv. klíčovým složkám [16, 23, 61, 63].

Pokud jsou aromatické látky přirozeně obsaženy v potravine, jedná se o AAL primární. Vyskytují se jako složky vyšších a nižších rostlin, mikroorganismů, hub, hmyzu a mořských živočichů. Vznikají – li při enzymových a chemických reakcích složek potravin, jedná se

o AAL sekundární. Sekundární AAL vznikají z prekurzorů při fermentačních pochodech a tepelným zpracováním potravin obsahujících vonné složky. Mezi nejběžnější sekundární AAL patří terpeny, alifatické a aromatické sloučeniny. Mohou být přítomny ve formě stereoizomerů (enantiomery nebo diastereoizomery), což zvyšuje počet možných struktur a komplikuje jejich správnou identifikaci [15, 16, 23, 34].

Mezi primární a sekundární AAL jsou řazeny některé uhlovodíky či látky, které ve své molekule obsahují kyslík (alkoholy, estery, aldehydy, ketony, kyseliny, etery), dusík (aminy, dusíkaté heterocykly) a síru (trioly, sulfidy, sírné heterocykly). Lze je nalézt také v organických sloučeninách [16, 23, 34].

Aromatické látky mohou interagovat s dalšími složkami potravin, jako jsou proteiny, sacharidy a lipidy, na nichž závisí intenzita a kvalita vůně [23, 50, 51].

Pro separaci a následnou identifikaci aromatických látek je používána plynová chromatografie. Často je nutné aromatické látky koncentrovat, protože jsou v potravinách obsaženy v nízkých koncentracích. Pro selektivní identifikaci sloučenin, které by mohly být zodpovědné za chuť a vůni potraviny, je vhodné použít lidských smyslů. Přímým spojením mezi chemickou analýzou a sensorickou analýzou je plynová chromatografie s olfaktometrií [51].

Vonné látky mohou být přírodního nebo syntetického původu a většinou se projevují příjemnou vůní [12].

## 2.1 Přírodní vonné látky

Přírodními surovinami pro získávání látek vonného charakteru, jsou zejména květy a jiné části rostlin, které obsahují silice. Během sklizení rostlinných materiálů dochází k rychlým metabolickým změnám, které mohou podstatně ovlivnit charakter získaných látek. Proto je nutná zkušební manipulace se surovinami. Je třeba brát zřetel na stáří listu, jeho pozici, vystavení povětrnostním podmínkám či dobu sklizně [12, 18, 67].

Přírodní vonné látky lze získat i ze živočišných žláz a orgánů [12].

### 2.1.1 Silice

Silice jsou těkavé, intenzívně vonící směsi získávané z různých částí rostlin (květy, stonky, plody, semena, dřevo, listy, kořeny). Je možné syntetizovat i silice umělé (rekonstituované) s obsahem syntetických aromatických látek, které jsou stejné jako přírodní. Syntetické silice postrádají jemnost, která je pro přírodní silice typická, ovšem jsou levnější a mají standardní kvalitu [23, 75].

Rozpustnost silic v etanolu a jejich kvalitu zhoršuje přítomnost terpenových uhlovodíků. Ty ale nemají příliš velký vliv na charakter vůně, jelikož za vůni jsou zodpovědné kyslíkaté sloučeniny. Deterpenace je prováděna destilací, extrakcí či adsorpcí. Po odstranění terpenových uhlovodíků se silice označují jako deterpenové a jsou odolnější vůči autooxidaci [23].

Silice se uplatňují jak v potravinářství např. jako antioxidanty tuků, tak v kosmetice do masážních olejů či farmacii jako antiseptika, lokální anestetika, sedativa apod. [23, 76].

## 2.2 Syntetické vonné látky

Syntetické vonné látky jsou umělé látky, které jsou buď identické s látkami přítomnými v přírodních materiálech, nebo nejsou identické ani s rostlinnými ani s živočišnými látkami, nebo v nich nebyly identifikovány [12].

### 2.2.1 Uhlovodíky

Uhlovodíky tvoří složku silic a lipidů a jsou slabými vonnými látkami. Vyskytují se v potravinách primárně i sekundárně (např. oxidace lipidů a karotenoidů). Pro aromatizaci potravin se používají zřídka. Využívají se jako rozpouštědla v průmyslu vonných a chuťových látek a v tukovém průmyslu [23, 34].

Největší význam mezi vonnými látkami mají terpenové uhlovodíky. Tvoří aroma ovoce, zeleniny a koření. V silicích koření a zeleniny jsou obsaženy aromatické monoterpeny [23, 34].

### 2.2.2 Alkoholy

K aromatizaci se uplatňují převážně nižší primární alkoholy a jejich estery. Mohou být jak primárními, tak sekundárními chuťovými látkami potravin. Přírodní vonné látky tvoří především nižší alifatické nasycené i nenasycené alkoholy (obzvláště monoterpenové a seskviterpenové). Významnými vonnými alkoholy jsou glycerol, cukerné alkoholy, hydroxykyseliny atp. [23, 34, 61].

Alifatické alkoholy vznikají v potravinách a nápojích převážně kvasnými procesy a samotné jsou slabými vonnými látkami. Nejznámějšími zástupci jsou metanol, jenž se nachází v rostlinných materiálech ve formě esterů. Na chuť a vůni má vliv také etanol [23, 34].

### 2.2.3 Etery

Etery jsou metylestery se substituovanou metoxy skupinou a jako vonné a chuťové látky se uplatňují zřídka. Mezi alifatické a aromatické ethery patří např. anetol, estragol, myristicin atp. [23, 34].

Epoxidy jsou cyklické ethery a jsou primárními vonnými látkami řady potravin. Sekundárně vznikají oxidací karotenoidů, steroidů, mastných kyselin a jiných sloučenin [34].

### 2.2.4 Karbonylové sloučeniny

Karbonylové sloučeniny patří k nejvýznamnějším vonným a chuťovým látkám. Dělí se na aldehydy, obsahující aldehydickou skupinu  $-CH=O$ , a ketony, obsahující ketonickou skupinu  $-C=O$ . Těkavé aldehydy a ketony jsou v potravinách jako primární vonné látky, ale

také vznikají sekundárně enzymatickými nebo chemickými reakcemi. Většinou bývají jako složky žádoucí, ale mohou vznikat i jako nežádoucí látky [23, 34].

- **Aldehydy**

Téměř všechny nasycené alifatické aldehydy jsou významnými vonnými látkami. Štiplavou až žluklou vůni mají alifatické aldehydy s 1 - 7 atomy uhlíku, příjemnou vůni mají při počtu uhlíků 8 – 14 a pokud je uhlíků více než 14, bývají bez zápachu [34].

Z nenasyčených alifatických aldehydů je důležité zmínit propenal (akrolein), 2-alkenal, 3-alkenal a 2, 4-alkadienal. Akrolein má ostře dráždivý zápach s toxickým účinkem a vzniká v potravinách sekundárně z přehřátých tuků. Může také vznikat v malém množství v alkoholických nápojích [34, 66].

Další vonné aldehydy jsou terpenové aldehydy, aromatické aldehydy a heterocyklické aldehydy [34, 66].

- **Ketony**

Alifatické ketony s krátkým řetězcem jsou nositeli příjemné vůně. K aromatizaci jsou využívány ketony o střední délce uhlíkatého řetězce a vyšší ketony (metylketony) mají charakteristický pach. Nejznámějšími zástupci jsou aceton, octová kyselina, propanon, 2-heptanon [34, 66].

Jako aroma plísňových sýrů se uplatňují metylketony (propanol, 2-pentanon, 2-heptanon, 2-nonanon apod.). Nenasycené ketony vznikají při degradaci karotenoidních produktů a mají nežádoucí aroma, např.: 1-penten-3-on způsobuje pach po rybím tuku. Se žampionovým aroma je spojován okt-1-en-3-on [26, 34].

Mezi další vonné ketony jsou řazeny terpenové ketony, jež jsou zodpovědné za aroma mnoha silic (karvon, pulegon, mentol, thujon aj.) [34, 66].

- **Karboxylové kyseliny**

Nejvíce se jako vonné a chuťové látky uplatňují nižší monokarboxylové mastné kyseliny. Z aromatických kyselin je v rostlinných silicích poměrně rozšířená kyselina benzoová [34].

### 2.2.5 Fenolové sloučeniny

Fenolové sloučeniny jsou heterogenní skupinou sloučenin a jsou součástí prakticky všech rostlinných potravin. Jsou primární složkou silic nebo vznikají sekundárně. Některé fenoly se pro svou trpkou chuť uplatňují jako vonné a chuťové látky. Jsou složkou udíčího kouře (guajakoly) a udících kapalin pro výrobu uzených potravin [34].

### 2.2.6 Sirné sloučeniny

Většina sirných sloučenin se podílí na aroma celé řady potravin, kvůli své charakteristické intenzivní vůni a chuti. Jsou primárními vonnými látkami např. v česneku, cibuli, křenu atd. nebo vznikají sekundárně během tepelného zpracování (pražení kávy, tepelná úprava masa). Nejznámější je sulfan, vznikající při dlouhodobém skladování nebo při tepelném zpracování bílkovinných potravin. Vyšší koncentrace sulfanu v potravinách může poukazovat na hnilobné procesy. Dalšími významnými sirnými složkami aroma potravin jsou thioly. Jejich vůně je intenzivní, až nepříjemná [34, 78].

### 2.2.7 Dusíkaté láky

Jako vonné (popřípadě i chuťové) látky jsou významné amoniak, některé aminy, iminy amidy karboxylových kyselin a dusíkaté heterocykly. V kyselých potravinách vytváří tyto látky netěkavé soli, v některých tvoří převážně aromatické látky [34].

Téměř ve všech potravinách jsou obsaženy aminy. Nejvíce se vyskytují v sýrech, rybách a mase. Mohou být primární, sekundární, terciární a kvartérní. Ze sekundárních aminů je třeba zmínit trimethylamin, dimethylamin, methylamin a amoniak, jež jsou charakteristické vonné látky ryb a dalších vodních živočichů. Trimethylamin vzniká *post mortem* z trimethylaminoxidu. Vonnými látkami masa mořských živočichů jsou i cyklické amidy (tzv. laktamy) jako například pyrrolidon a piperidon [34].

## 2.3 Stanovení aromatických látek

Ke stanovení aromatických látek obsažených v potravinách, je potřebné vybrat vhodnou metodu umožňující extrakci všech sloučenin, které přispívají k chuti potraviny. Metoda nesmí měnit profil těkavých látek. Problémem při izolaci aromatických látek je jejich nízká

koncentrace v potravinách a jejich nízké vonné prahy, které jsou často nedostačující pro detekční limity GC detektorů [64].

Těkavé sloučeniny jsou analyzovány pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) či olfaktometrií (GC/O). Metoda GC/MS je využívána k identifikaci a kvantifikaci aromatických látek, ale neposkytuje informace, zda jsou tyto identifikované látky aromaticky aktivní. Doplněním o GC-O je možné zkoumat nejen strukturu vonných látek, ale i jejich aromatickou aktivitu [8, 26].



### 3 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je fyzikální separační metoda, při které jsou oddělovány jednotlivé složky obsažené ve vzorku. Účelem je co nejlépe separovat jednotlivé složky dané směsi. Jedná se o kvalitativní a kvantitativní metodu analýzy vzorku [13, 65].

Při analýze je vzorek vnesen mezi systém dvou vzájemně nemísitelných fází – stacionární (nepohyblivou) a mobilní (pohyblivou). Vzorek je umístěn na začátek stacionární fáze a pohybem mobilní fáze je unášen mezerami mezi částicemi porézní náplně stacionární fáze. Jednotlivé složky vzorku mohou být stacionární fází zachyceny a při pohybu se zdržují. Složky poutány stacionární fází silněji, se zdržují více a ty složky, které jsou poutané stacionární fází slabě, se dostávají na konec fáze dříve. Tím dochází k postupné separaci složek [13, 65].

Plynová chromatografie (Gas Chromatography - GC) je separační metoda, jejíž mobilní fází je proud plynu. Nejčastěji používané nosné plyny jsou dusík, helium, argon, vodík a oxid uhličitý. Vzorek převedený do plynného stavu, je unášen proudem nosného plynu a jednotlivé složky vzorku jsou separovány na koloně na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fází. Složky, které opustí kolonu, jsou indikovány detektorem, jehož signál se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek. Výsledek chromatografické analýzy je závislý na konstantním průtoku nosného plynu kolonou [13, 22, 54].

Ve většině případů je analýza v plynové chromatografii prováděna eluční technikou a signál detektoru je registrován zapisovačem formou elučních křivek – tzv. píků, jež slouží jak ke kvalitativní tak ke kvantitativní analýze [54].

Plynovou chromatografií je možné separovat plynné a těkavé látky, většinu nedisociovatelných kapalin, pevných organických molekul a organokovové látky. Pro přeměnu analytu v plyn, je nutné, aby separované látky měly dostatečný tlak syté páry, byly tepelně stálé a měly relativní molekulovou hmotnost menší než 1000. Není vhodné plynovou chromatografií používat pro separaci makromolekul, organických a anorganických solí [13, 65, 89].

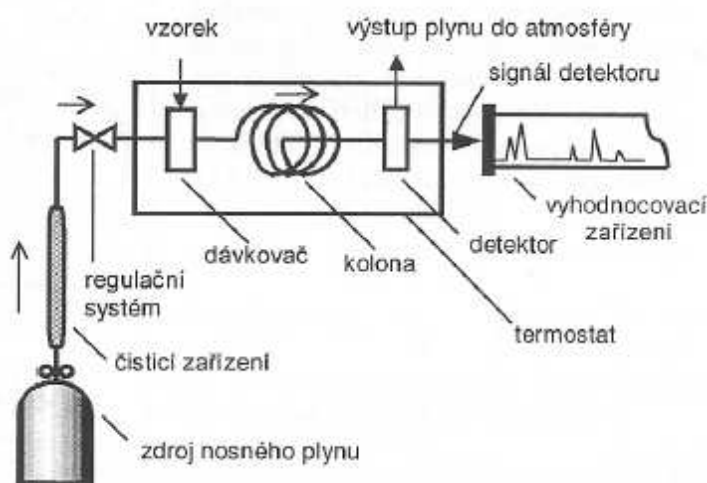
Významné uplatnění nalézá plynová chromatografie v průmyslu organických syntéz. Převedením analytů na těkavé produkty pomocí derivatizace, umožnilo širší aplikaci GC v lékařských, biologických a biochemických oborech. Standardně se využívá ke sledování kvality ovzduší, pro stanovení zbytků rozpouštědel v léčivech či pro stanovení stopových

množství pesticidů v půdě, ve vodách a potravinách. GC není využívána jen pro analytické účely, ale je ji možné použít jako metodu sledování fyzikálně – chemických pochodů a vlastností nebo jako metodu preparativní [22].

### 3.1 Instrumentace

Obvykle je plynová chromatografie dělena na chromatografii v systému plyn – pevná látka (GSC) a na chromatografii v systému plyn – kapalina (GLC). U GSC je stacionární fází absorbent (aktivní uhlí, silikagel, molekulová síta) a distribuce mezi obě heterogenní fáze je založena na adsorpci nebo síťovém efektu. U GLC metody je stacionární fází kapalinový film, který je zakotvený na inertním nosiči nebo vnitřní stěně kapiláry a principem je rozpouštění [22].

Obrázek č. 4 zobrazuje instrumentaci plynového chromatografu dle Kloudy:



Obr. 4 Schéma plynového chromatografu [13]

#### 3.1.1 Zdroj nosného plynu

Jako zásobník nosného plynu (mobilní fáze) slouží tlaková láhev. Nosný plyn je veden do dávkovače, stacionární kolony a detektoru. Volba nosného plynu je určena úkolem unášet vzorek kolonou, nutností inertního chování vůči složkám vzorku (nesmí mít přímý vliv na separaci), druhem kolony a detektoru. Jeho chování by se mělo blížit ideálnímu plynu. Roli

při volbě hraje také potřeba netoxicity, bezpečnosti práce a nízké ceny. Z tohoto hlediska je nevýhodný hojně využívaný vodík – je hořlavý, explozivní, popř. schopný hydrogenovat některé látky, které jsou detekovány navíc [13, 19, 22].

### 3.1.2 Čistící zařízení

Slouží pro zachycování vlhkosti a nečistot v nosném plynu. Jsou zde odstraňovány nežádoucí stopy ostatních plynů, zejména kyslíku, který poškozuje stacionární fázi kolony [13, 71].

### 3.1.3 Regulační systém

Elektronickou regulací zajišťuje průtok nosného plynu, který je buď stálý či programově se mění. Takto je docíleno stanoveného průtoku i při změnách teplot během separace [13, 71, 89].

### 3.1.4 Dávkovač

V dávkovači dochází k převedení vzorku do plynného stavu, jeho zavedení do nosného plynu a nanesení na začátek kolony. Převedení do plynného stavu probíhá v tzv. lineru (obr.

č. 5), což je skleněná vložka. Vzorky roztoku jsou nastříkovány injekčními stříkačkami přes pryžové septum. Je – li vzorek plynný, používají se plynotěsné injekční stříkačky nebo obtokové dávkovací kohouty [13, 19, 22, 54].



Obr. 5 Liner

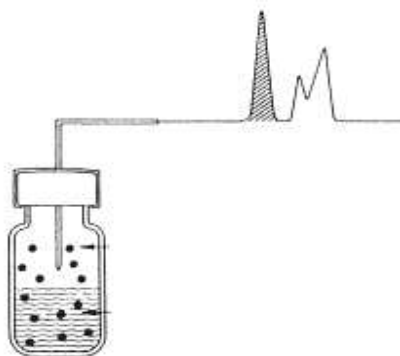
Společně s kolonou a detektorem je dávkovač umístěn v termostátovém prostoru, který umožňuje individuální nastavení teplot jednotlivých částí. Aby nedocházelo ke kondenzaci vzorku je nutné, aby teplota dávkovače přesahovala bod varu nejméně těkavé analyzované složky vzorku alespoň o 50 °C [19, 22, 54].

Metody nastříkání vzorku:

- Nástřík do kolony (on column) – uplatňuje se u náplňových kolon, ale je preferován i u kapilárních kolon větší světlosti. Horní část kolony je zahřívána na teplotu o 10 – 30 °C nižší, než je teplota varu rozpouštědla. Nastříknutí vzorku musí být rychlé, aby se na stěně kolony vytvořil kapalný film a po 30 – 60 s dojde k prudkému zvýšení teploty na koloně, aby došlo k odpaření. Dávkuje se 1 – 10 µl.
- Nástřík pomocí děliče toku (split injection) – je používán v případě vzorků s vysokou koncentrací analyzovaných složek a u tenčích kolon, jež mají malou kapacitu. Proto je nutné u koncentrovaných vzorků jeho část s nosným plynem oddělit pomocí děliče toku (splitter). Do kolony se dostává jen část nastříkovaného množství v intervalu 0,1 – 2 µl . Homogenní odpařování a účinné promíchání vzorku před vstupem do kolony zajišťuje skleněná vata v odpařovací trubici. Dělič toku je používán především při kvalitativní analýze, kdy je požadováno velké rozlišení zón separovaných složek.
- Nástřík bez děliče toku (splitless injection) – je vhodný pro zředěné vzorky a používán u kvantitativní analýzy. Zařízení je totožné jako u nástříku dělením toku, ale odvod děliče je uzavřen. Vzorek je pozvolna dávkován do odpařovací trubice. Po oplachu septa a zvýšení teploty kolony začne probíhat separace [13, 21, 22].

Jednou z možností jak převést vzorek do plynného stavu a vnést jej do nosného plynu, je použití headspace techniky. Pomocí headspace techniky jsou těkavé látky ze vzorku odděleny a plynná fáze je použita pro analýzu složek obsažených ve vzorku. Ostatní netěkavé komponenty zůstávají v lahvičce a nepodléhají analýze [89].

Obrázek č. 6 znázorňuje dávkování vzorku pomocí headspace techniky.



Obr. 6 Headspace dávkování  
vzorku [89]

### 3.1.5 Koncentrátor

Nachází se na počátku kolony a zachycuje na absorbent vzorky ze vzduchu nebo z vodného roztoku. Absorbent bývá pórovitý polymer nebo grafitizované saze. Následuje termická desorpce přímo do kolony [13].

### 3.1.6 Kolona

V koloně je umístěna stacionární fáze chromatografu a probíhá zde separace jednotlivých složek. Kapaliny tvořící stacionární fázi by měly být teplotně stálé, málo těkavé a měly by být pevně ulpělé na nosiči, aby nedocházelo k jejich vymývání z kolony. Proto je někdy použito chemické zesíťování stacionární kapaliny, popř. navázání na nosič kovalentní vazbou [13, 70, 71].

Účinnost kolony závisí na rychlosti toku nosného plynu, teplotě kolony a na tloušťce stacionární fáze. Před samotnou separací je důležitá kondicionace kolony, při které je umožněna interakce stacionární fáze s mobilní fází a rozpouštědlem. Dojde tak k ustálení hladiny nulové linie a k vymytí nečistot [19, 70].

Druhy kolon v plynové chromatografii:

a.) Náplňové kolony – jsou skleněné nebo ocelové trubice, naplněné sorbenty (v případě GSC) nebo nosiči (v případě GLC) pokrytými kapalnou fází, o délce až 6 m a vnitřním průměru 2 - 4 mm. Kapacita náplňových kolon je větší než u kapilárních. Adsorbenty pro adsorpční chromatografii jsou silikagel, grafitizované saze a oxid hlinitý (alumina). Jako molekulová síta jsou používány hlinitokřemičitany. Pro rozdělovací chromatografii jsou

používány nosiče kapalné fáze na bázi oxidu křemičitého a jsou upraveny tak, aby při separaci neabsorbovaly, protože separace mezi mobilním nosným plynem a stacionární kapalnou fází zde probíhá pouze na principu rozdělování.

b.) Kapilární kolony – jako nosič stacionární fáze využívají vlastní stěny. Jsou vyráběny z taveného křemene. Vnitřní průměr kolon může být až 0,7 mm a tloušťka filmu stacionární fáze až 5  $\mu\text{m}$ . U většího průměru kolony je možnost pojmutí více vzorku. Menší průměr vede k větší účinnosti, ale menší kapacitě. Délka kapilárních kolon bývá v rozmezí 15 – 100 m, ale běžně je využívána délka 30 m. Kapilára je chráněna před zlomením a teplotami do 350 °C polyimidovou vrstvou, která zároveň dává kapiláře pružnost. U vyšších teplot do 425 °C může být použita termicky stabilnější hliníková vrstva [13, 19, 22].

Kapilární kolona je zobrazena na obr. č. 7.



*Obr. č. 7 Kapilární kolona*

Podle uložení mobilní fáze se kapilární kolony dělí na:

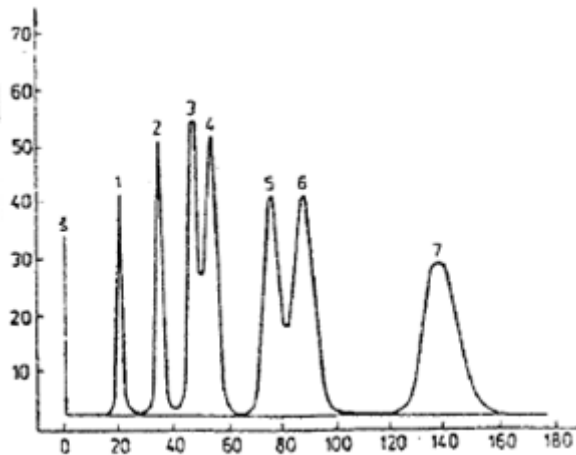
- WCOT (Wall Coated Open Tubular),
- SCOT (Support Coated Open Tubular),
- PLOT ( Poroust Layer Open Tubular) [13, 22].

### 3.1.7 Detektor

Detektor reaguje na přítomnost analytu v protékajícím nosném plynu a vysílá signál, který je zaznamenáván v závislosti na čase. Výsledný grafický záznam závislosti signálu detekto-

ru na čase, se nazývá chromatogram. Detektor musí mít vysokou selektivitu pro stanovované analyty a nízký detekční limit a jeho odezvou by měla být lineární funkce obsahu analytu [13, 21].

Chromatogram je vyobrazen na obr. č. 8.



Obr. 8 Chromatogram [54]

Detektory používané v plynové chromatografii:

- **Tepelně – vodivostní detektor (TCD)** – nosný plyn zde proudí přes vlákno žhavané stálým elektrickým proudem a ochlazuje jej na určitou teplotu.
- **Atomový emisní detektor (AED)** – plyn z kolony vstupuje do plazmové hlavice, kde se atomizuje a emituje záření, které je rozkládáno mřížkou. Rozložené záření je analyzováno diodovým polem a následně se určí obsahy prvků.
- **Ionizační detektor** – principem je vedení elektřiny v plynech. Izolovanou nádobou proudí plyn přes dvě kovové elektrody, mezi nimiž je elektrické pole,

a.) plamenový ionizační detektor (FID),

b.) plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID),

c.) bezplamenný detektor s alkalickým kovem (bezplamenný TID),

d.) detektor elektronového záchyty (ECD),

e.) fotoionizační detektor (PID),

f.) hmotnostní spektrometr (MS).

Detekce hmotnostním spektrometrem má ve spojení s plynovou chromatografií nezastupitelný význam, obzvláště tam, kde je prováděna identifikace neznámých složek směsí. V hmotnostním spektrometru jsou ionty analyzovány kvadrupólovým analyzátozem. Je možné získat hmotnostní spektrum každé látky a identifikovat ji porovnáním jejího spektra s knihovnou spekter [13, 21, 22].

### **3.1.8 Vyhodnocovací zařízení**

Vyhodnocovací zařízení zpracovává signál z detektoru ve formě chromatografické křivky a provádí její vyhodnocení [13].

### **3.1.9 Termostat**

Vytváří takovou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, aby byl vzorek udržen v plynném stavu. Běžně pracuje při teplotách 50 – 300 °C [13].



## 4 METODY SENZORICKÉ ANALÝZY

Senzorická analýza potravin patří k základním kontrolním metodám kvality potravin, surovin a přídatných a pomocných látek. Kvalita potravin, v souladu s nároky spotřebitelů, je dána sensorickými vlastnostmi, chemickým složením, fyzikálními vlastnostmi, úrovní mikrobiální a toxikologické kontaminace, dobou minimální trvanlivosti, balením a označením. Spotřebitelé spoléhají na zdravotní a hygienickou nezávadnost výrobku, proto jeho výběr závisí na sensorické jakosti. Sensorická analýza je obor multidisciplinární a staví na poznatcích z psychologie, sociologie, biologie a částečně i chemie a biochemie. Je využívána kontrolními orgány a je součástí hygienického dozoru při výrobě a distribuci potravin, jelikož změny vůně, chuti a barevné změny jsou častým ukazatelem mikrobiální kontaminace či pochybení technologie. Prozatím nelze sensorickou analýzu nijak nahradit [39, 45, 56].

### 4.1 Smyslové vnímání

Senzorické vlastnosti jako je chuť, vůně, textura a vzhled jsou důležité vlastnosti potravin, které hrají u zákazníka roli. Jsou hodnoceny pomocí smyslů – chuti, čichu, zraku a sluchu. Lidský smyslový orgán je složen z 3 částí – čidlo (receptor), dostředivý nerv a receptor [46, 59, 60].

Hodnocení potravin pomocí smyslů, včetně zpracování podnětů centrálním nervovým systémem, je nazýváno sensorickou analýzou [60, 72].

#### 4.1.1 Chuť

Jsou rozeznávány čtyři základní chutě – sladká, slaná, hořká a kyselá. Každá z chutí je vnímána na jiné části jazyka - sladká na špičce, slaná a kyselá na bocích a hořká kořenem. Kromě těchto základních chutí je ještě rozlišována chuť umami, kterou vyvolávají zvýrazňovače chuti. Lze popsat i chuť palčivou, svíravou a kovovou. Podstatou chuťového vjemu je vazba chuťově aktivních látek na bílkovinný receptor a následný přenos vzruchu nervem do centrální nervové soustavy. Vnímání chutí trvá poměrně dlouhou dobu, jelikož chuťové látky se musí v ústech nejdříve rozpustit a až poté pronikají k chuťovým pohárkům [39, 60].

### 4.1.2 Čich

Dle normy ISO 5492 se organoleptická vlastnost, vnímaná čichovým orgánem, nazývá pach. Čichové receptory jsou umístěny ve sliznici stropu dutiny nosní. Příjemný vjem vnímaný nadechnutím do nosní dutiny je vůně a vjem přicházející do nosní dutiny z dutiny ústní je aroma. Nepříjemné vjemy jsou označovány jako zápach. Čichová citlivost může být ovlivněna faktory, jako jsou věk, pohlaví, kouření, nemoc či zranění. Komplexní vjem čichového a chuťového smyslu se nazývá flavour [39, 47, 48, 49, 55].

### 4.1.3 Zrak

Zrakové receptory jsou umístěny v oku. Zrakové vjemy dávají informaci o barvě, tvaru, velikosti, povrchu potraviny apod. Lidský zrak je schopný vnímat elektromagnetické záření o vlnové délce 380 – 780 nm a rozeznává intenzitu světla a u barev odstín, světlost a sytost [55, 60, 57].

### 4.1.4 Sluch

Sluchem jsou vnímány tři typy zvukových informací – tóny, šelesty a hřmoty. V sensorické analýze jsou nejčastěji vnímány šelesty a hřmoty. Sluchový vjem je v sensorické analýze významný při hodnocení výrobků, kde je sledována křehkost [39, 60, 73].

### 4.1.5 Hmat

Pomocí hmatového smyslu jsou hodnoceny texturní vlastnosti výrobku. Hmatem je zjišťován tvar, velikost, jakost povrchu či působení tlaku na povrch výrobku. Jsou rozlišovány dva hmatové smysly – taktilní, informující o vlastnostech povrchu a kinestetický, sloužící k identifikaci vlastností jako je křehkost, elasticita či tvrdost [39, 57, 60].

## 4.2 Sensorická laboratoř a hodnotitelé

### 4.2.1 Sensorická laboratoř

Pro sensorickou analýzu by mělo být připraveno specializované pracoviště. Podmínkami pro uspořádání sensorického pracoviště se zabývá norma ISO 8589. Umístění sensorické laboratoře musí být v klidné části a laboratoř musí být rozdělena na zkušební prostor s jednotlivými kóji, které jsou odděleny od přípravného prostoru tak, aby hodnotitele neo-

vlivňovaly žádné pachy. K zachování objektivitu hodnocení slouží kóje. Celková místnost musí působit neutrálně, s neutrální barvou stěn, aby nedocházelo ke zkreslování barvy hodnocené potraviny. Nádobí a přístroje musí být neutrální a nesmí zanechávat žádné pachy. V místnosti musí být stálá vlhkost a teplota a osvětlení místnosti by mělo odpovídat rozptýlenému dennímu světlu [39, 42, 60].

#### 4.2.2 Senzorický panel

K sensorickému hodnocení je nutné mít tzv. panel, což je skupina hodnotitelů. Panel je složen z vedoucího panelu, techniků panelu a sensorických posuzovatelů [41, 60].

Dle normy ISO 8586-1 jsou hodnotitelé děleni do tří skupin:

- 1.) posuzovatelé
  - a.) laičtí - vybraní ze široké veřejnosti, ještě se nikdy neúčastnili sensorického hodnocení a nevztahují se na ně žádná konkrétní pravidla,
  - b.) zasvěcení – již se účastnili sensorického hodnocení,
- 2.) vybraní posuzovatelé – byli pro sensorickou zkoušku vybráni kvůli svým schopnostem a byli vycvičeni,
- 3.) experti
  - a.) expert posuzovatel - osoba v sensorickém hodnocení zkušená, podávající reprodukovatelné a kvalitní výsledky u jednotlivých analýz,
  - b.) specializovaný expert posuzovatel - má zkušenosti jako specialista na výrobek, výrobu či marketing, je schopen vykonávat sensorickou analýzu výrobku a vyhodnocovat nebo předvídat změny vlastností výrobků [39, 41, 58].

Hodnotitel se během výcviku učí posuzovat barvy, chutě, pachy či velikosti intenzity podnětu, upevňuje schopnosti slovního popisu, dlouhodobou sensorickou paměť a osvojuje si jednotlivé metody sensorické analýzy [39, 60].

Schopnost k sensorickému hodnocení je nejvyšší mezi 18 - 40 lety. U posuzovatelů do 60 let mohou zkušenosti nahradit klesající citlivost. Alespoň hodinu před degustací je potřeba nekouřit, nejíst silně kořeněné pokrmy a nepít alkoholické nápoje. Citlivost schop-

nosti posuzovat je závislá i na denní době. Nejvhodnější doba je od 9 do 11 hodin dopoledne a od 14 do 16 hodin odpoledne. Posuzování by nemělo trvat déle než 2 - 3 hodiny denně

[60, 74].

Při spotřebitelských testech se účastní stovky až tisíce hodnotitelů, u zjišťování jakosti výrobku hodnotí 10 – 30 hodnotitelů, při každodenní kontrole výrobku je doporučen počet hodnotitelů tři [39].

#### 4.2.3 Vzorek a jeho hodnocení

Při sensorické analýze je nutné eliminovat negativní vlivy, které by mohly na hodnotitele působit. Mezi negativní vlivy patří i smyslová únava, proto je nutné zařadit mezi hodnoceními dostatečné pauzy. Aby předchozí vjemy neovlivňovaly hodnocení následujících vjemů, jsou využívány tzv. neutralizátory, které pomáhají eliminovat předchozí vjemy (např. voda, vodka, bílé pečivo, jablko). Může nastat i únava psychická, jelikož hodnotitel musí být během analýzy plně soustředěn, udržovat si pořádek a řádně vyplňovat protokol. Pokud je analýza omezena časem, je hodnotitel nucen pracovat pod tlakem či na něj mohou působit vlivy sociální [39, 60].

Vzorky v sensorické analýze jsou určeny ke konzumaci, proto je nutné při odběru a manipulaci s nimi dodržovat hygienická pravidla. Musí být podávány v dostatečném množství. Obvykle je dostačující 15 – 20 ml tekutého vzorku a 20 – 30 g tuhého. Vzorky v rámci jedné analýzy musí být podávány za stejných podmínek (stejně množství, nádobí, teplota). Vzorek je nutné podávat při takové teplotě, jakou má vzorek při skutečné konzumaci, protože změnou teploty dochází ke změně intenzity vůně a chuti. Pro objektivní hodnocení vzorků je nutné zachovat jejich anonymitu. Z toho důvodu jsou podávány pod náhodným trojmístným číselným kódem [39, 60, 72].

Počet vzorků je řízen složitostí úkolu. U degustace je podáváno 4-6 vzorků, při náročnějších zkouškách jen 2-3. Mezi degustacemi jednotlivých vzorků je nutné vložit pauzu, aby zregenerovala schopnost chuťových receptorů [60, 74].

Pokud je vzorek hodnocen jako celek, hodnotí se jako první barva a vzhled a následně čichové podněty. Textura je hodnocena mezi prsty a poté v ústech. Během žvýkání jsou uplatněny i vjemy čichové. Zároveň jsou hodnoceny chutě přítomné ve vzorku, změny in-

tenzit a vývoj jednotlivých chutí. Některé vjemy se dostavují až po polknutí sousta [39, 60].

#### 4.2.4 Rozlišovací zkoušky při sensorickém posuzování potravin

Rozlišovací zkoušky zjišťují, zda existuje mezi předloženými vzorky rozdíl v sensorické jakosti nebo v některém jejím znaku. Druh zkoušky je volen dle výběru posuzovatelů. Před vlastní zkouškou je nutné stanovit pravděpodobnost, na které má být výsledek zaručen [60, 74].

Při sensorickém posuzování potravin jsou uplatňovány níže uvedené zkoušky:

1. párová zkouška,
2. trojúhelníková zkouška,
3. zkouška duo-trio,
4. zkouška 2/5,
5. pořadová zkouška,
6. poměrové metody,
7. metody slovního popisu,
8. stanovení sensorického profilu [39].

Kromě rozlišovacích zkoušek jsou používány také preferenční zkoušky, srovnání se standardem, posuzování potravin stupnicovými metodami a profilovými metodami [60].

### 4.3 Trojúhelníkový test

Dle normy ČSN EN ISO 4120 jsou definovány dva druhy trojúhelníkové zkoušky:

1. Trojúhelníková zkouška pro rozdílnost – určuje rozdíl mezi dvěma výrobky.
2. Trojúhelníková zkouška pro podobnost – stanovuje, zda jsou srovnávané výrobky podobné, či mezi nimi je nebo není významný rozdíl [79].

U trojúhelníkové zkoušky obdrží hodnotitel trojici vzorků, kde jsou 2 vzorky shodné, a třetí je rozdílný. Je tedy možných 6 kombinací: ABB, BAB, BBA, BAA, ABA, AAB. Hodnotitelům je současně předkládána sada 3 vzorků, ve které jsou 2 vzorky shodné. Určuje se,

který ze vzorků je odlišný. Posuzovatel ochutnává vzorky v daném sledu a ochutnání je možné libovolně opakovat. Aby nedocházelo ke splynutí chutí, je vhodné po každém ochutnání vypláchnout ústa a před ochutnáním následujícího vzorku počkat 30 až 60 sekund. Účelem je rozhodnout, které ze dvou vzorků z trojice jsou shodné a který je rozdílný. Výsledek je zaznamenán do protokolového formuláře. K dosažení spolehlivého závěru je postačujících obvykle 25 - 40 odpovědí. Trojúhelníková zkouška vyžaduje zaškolené hodnotitele s vycvičenou pamětí [60, 103].

#### **4.4 Senzorická analýza a metody instrumentální analýzy**

Instrumentální metody lze použít ve spojení se sensorickou analýzou jen tehdy, je-li znám vztah mezi intenzitou podnětu a charakterem vjemu, protože sensorickou analýzou jsou měřeny počitky a vjemy, instrumentálními metodami se měří podněty v podobě fyzikálních či chemických vlastností výrobku. Metody instrumentální analýzy poskytují dobře opakovatelné a reprodukovatelné výsledky, které lze snadno zpracovat statistickými metodami. Před vyjádřením sensorické jakosti pomocí instrumentálních metod je nutné přístroj nakalibrovat pomocí vzorků ohodnocených sensorickou analýzou. Lze měřit barvu (spektrofotometrie), texturní vlastnosti či aromatické látky (olfaktometrie) [39].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo stanovení aromatických látek ve vybraných karagenanových přípravcích, které by mohly být zodpovědné za nepříjemnou chuť a vůni v konečném masném výrobku.

V teoretické části bylo cílem:

- popsat chemickou strukturu a typ karagenanových přípravků, technologii výroby karagenanů a jejich využití v potravinářství,
- definovat aromatické látky a popsat princip plynové chromatografie,
- charakterizovat a popsat metody senzorické analýzy.

V praktické části bylo cílem:

- provést senzorické hodnocení masných výrobků s přídavkem karagenanů trojúhelníkovým testem, určit rozdílný výrobek a pomocí deskriptorů popsat jeho chuť a vůni,
- chromatograficky stanovit aromatické látky v karagenanových přípravcích metodou HS – GC/MS a porovnat výsledky analýzy u jednotlivých vzorků,
- na základě výsledků formulovat závěry.



## 6 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

### 6.1 Charakteristika vzorků

V praktické části diplomové práce byla provedena HS – GC/MS analýza vybraných šarží dvou karagenanových přípravků. Každý přípravek pocházel od jiného výrobce. Přípravkem č. 1 byl Ceamgel, jehož dodavatelem je Ceamsa (Španělsko) a přípravkem č. 2 byl Ricogel, který dodává Rico Carageenan (Filipíny).

K analýze bylo použito 8 vzorků od každého přípravku, které představovaly jednotlivé šarže přípravků. Analyzované šarže se od sebe liší datem expirace.

Pro senzoricou a chromatografickou analýzu, byly vybrány níže uvedené vzorky karagenanových přípravků:

- šarže C1 – C8 přípravku Ceamgel,
- šarže R1 – R8 přípravku Ricogel.

Přehled šarží karagenanového přípravku č. 1 Ceamgel, u kterých byla provedena chromatografická analýza, je uveden v tabulce č. 1.

*Tab. 1 Přehled sledovaných šarží karagenanového přípravku Ceamgel*

Přípravek č.	Název suroviny	Výrobce	Označení šarže	Měsíc/rok expirace
1.	Ceamgel	Ceamsa (Španělsko)	C1	7/2013
			C2	8/2013
			C3	2/2013
			C4	4/2013
			C5	9/2014
			C6	10/2014
			C7	11/2014
			C8	4/2015

Přípravek č. 1 Ceangel je béžový prášek bez chuti a zápachu, získaný zpracováním řas třídy *Rhodophyceae*. Přípravek je rozpustný ve vodných roztocích při teplotách kolem 70 °C. Po ochlazení tvoří gel, v kyselém prostředí pevnost gelu klesá v závislosti na teplotě a době ohřevu. Není rozpustný v rostlinných olejích či minerálních a organických rozpouštědlech. Obsah KCl je max. 11 %.

Vzhled přípravku č. 1 Ceangel je zobrazen na obrázku č. 9.



*Obr. 9 Přípravek č. 1 Ceangel*

Na šarži C1 karagenanového přípravku č. 1 se vztahuje reklamace výrobce konečného produktu, který reklamuje medicínální, chemickou až rybí pachut' v masném výrobku, kde byla zmíněná šarže použita. Jako náhrada za šarži C1 byla zvolena šarže R1 karagenanového přípravku č. 2, u které nebyly zaznamenány netypické sensorické vjemy v konečném masném výrobku.

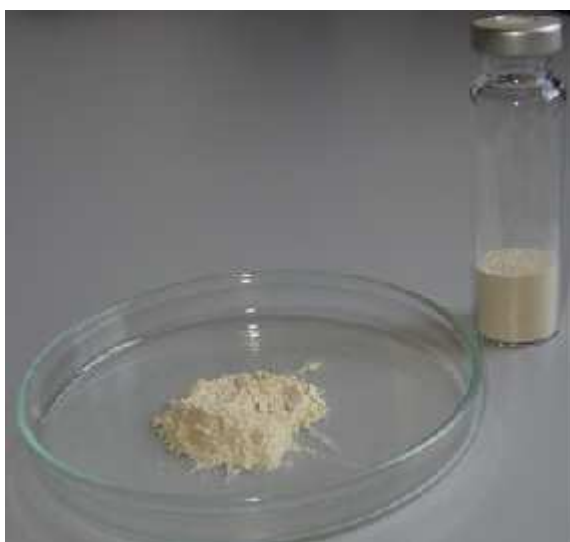
V tabulce č. 2 je uveden přehled šarží přípravku č. 2 Ricogel, u kterých byla provedena chromatografická analýza.

Tab. 2 Přehled sledovaných šarží karagenanového přípravku Ricogel

Přípravek č.	Název suroviny	Výrobce	Označení šarže	Měsíc/rok expirace
2.	Ricogel	Rico Caragenan (Filipíny)	R1	11/2013
			R2	10/2013
			R3	9/2013
			R4	8/2013
			R5	7/2013
			R6	12/2013
			R7	9/2014
			R8	1/2014

Přípravek č. 2. Ricogel je sypký prášek neutrální chuti a vůně světlé žlutohnědé barvy. Přípravek je rozpustný při 80 °C a vytváří gel o síle 100 – 300 g/cm<sup>2</sup>. Je stabilní v neutrálním a alkalickém prostředí a nerozpustný v alkoholu a ostatních organických rozpouštědlech. Obsah KCl je max. 10 %. Ve výrobcích zvyšuje vaznost vody a snižuje ztráty při vaření, zlepšuje krájitelnost a požadovanou texturu výrobku.

Vzhled přípravku č. 2 Ricogel je zobrazen na obrázku č. 10.



Obr. 10 Přípravek č. 2 Ricogel

Chromatografickému stanovení předcházela senzorická analýza, jak samotných karagenanových přípravků, tak masných výrobků, ve kterých byly přípravky použity. Byla porovnána chuť a vůně problematické šarže C1 s ostatními šaržemi C2 – C8 a s šarží R1, která byla použita jako náhrada za problematickou šarží C1. Následně byla senzoricky hodnocena drůbeží a vepřová šunka s přídavkem výše zmíněných šarží.

## 6.2 Pomůcky a přístroje

Pro přípravu vzorků k senzorické a chromatografické analýze a následně pro samotnou analýzu, byly použity níže uvedené pomůcky a přístroje:

- Laboratorní pomůcky a sklo
  - talíře,
  - sklenice,
- váhy Explorer OHAUS (USA),
- plotny s elektromagnetickým míchadlem Velp Scientifica (Itálie),
- plynový chromatograf Agilent 6890N Network GC Systém (USA),
  - headspace sampler Agilent 7697A (USA),
  - kapilára Agilent Technologies DB - kolona má nepolární charakter a její složení je 5 % fenyl a 95 % dimethylpolysiloxan. Kolona má teplotní rozsah - 60 °C + 325/350 °C a aplikuje se při detekci tekavých látek, pesticidů, herbicidů a halogenových sloučenin. Délka kolony je 30 m s vnitřním průměrem 0,25 mm a o tloušťce filmu 0,25 μm [80],
  - hmotnostní detektor Agilent 5973 Network Mass Selective Detector (USA),

Použitý chromatograf je vyobrazen na obrázku č. 11.



*Obr. 11 Plynový chromatograf Agilent 6890N  
Network GC System*

## 7 METODIKA STANOVENÍ

### 7.1 Senzorická analýza

Na základě reklamace suroviny C1 odběratelem pro tvorbu nepříjemných chuťových a vonných vjemů v hotovém masném produktu, byla nejprve sensoricky posouzena a porovnána samotná šarže C1 s ostatními šaržemi C2 - C8 přípravku č. 1 a následně s šarží R1 přípravku č. 2, jež byla zvolena jako náhrada za šarži C1. V návaznosti na hodnocení samostatných šarží byla provedena sensorická analýza masných výrobků s přídavkem uvedených šarží.

V rámci sensorické analýzy bylo provedeno sensorické hodnocení drůbeží a vepřové šunky, se zaměřením na chuť a vůni. Cílem sensorické analýzy bylo pomocí trojúhelníkového testu (ČSN EN ISO 4120) s metodou nucené volby identifikovat mezi vzorky výrobek lišící se od ostatních výrobků svou chutí a vůní.

#### 7.1.1 Senzorické hodnocení samostatných šarží

Při sensorickém hodnocení samostatných surovin byla hodnocena chuť a vůně. Problematická šarže C1 byla porovnána s šaržemi C2 – C8 přípravku č. 1 a s šarží R1 přípravku č. 2, který byl použit jako náhrada.

Do kádinek o objemu 250 ml byl navážen 1 g šarží C1 – C8 a šarže R1. Navážené vzorky byly zality 100 ml vlažné vody, jelikož po přidání teplé vody dochází k přílišnému hrdkování. Připravené roztoky byly dle pořadí hodnocení zahřívány na plotnách s elektromagnetickým míchadlem, aby se zkoumaný přípravek rozpustil a aby zároveň došlo k co největšímu uvolnění vonných látek obsažených ve vzorcích. Nejdříve byla hodnocena a popsána vůně šarže C1, následně byla srovnána s vůní ostatních šarží C2 – C8 a i s šarží R1. Bezprostředně po dosažení pokojové teploty, bylo stejným postupem provedeno hodnocení chuti výše zmíněných šarží.

#### 7.1.2 Senzorické hodnocení masných výrobků

Pro sensorickou analýzu karagenanových přípravků v masných výrobcích byla připravena drůbeží a vepřová šunka s přídavkem šarží C1 a R1. Od každého druhu šunky byl vyroben jeden výrobek s přídavkem problematické šarže C1 a jeden výrobek s nahrazující šarží R1.

Přehled použitých šarží v masných výrobcích určených pro senzoryckou analýzu je uveden v tab. č. 3.

*Tab. 3 Přehled použitých šarží v šunkách pro senzoryckou analýzu*

Šunka	Triangl test č.	Kód vzorku	Šarže
Drůbeží	1	A	C1
		B	R1
Vepřová	2	C	R1
		D	C1

Senzorycké analýzy šunek se zúčastnilo 24 školených senzoryckých hodnotitelů, kteří se zaměřili na hodnocení vůně a chuti. K analýze bylo předloženo 6 kombinací vzorků po trojicích, ve kterých byly vždy 2 vzorky shodné. Úkolem hodnotitelů bylo identifikovat výrobek, který se od ostatních výrobků lišil, a popsat chuť a vůni vybraného výrobku, popřípadě popsat rozdíl.

Vzorky byly podávány v daném pořadí na bílých porcelánových talířích a byly označeny anonymně dvoj a troj číselnými kódy. Ochutnávání vzorků probíhalo ve směru zleva doprava a bylo povoleno i zpětné ochutnávání. Hodnocený vzorek byl podáván při takové teplotě, která odpovídá teplotě vzorku při skutečné konzumaci, tedy bezprostředně po vytažení z lednice. Nedochozí tak ke změně intenzity vůně a chuti vlivem teplotních změn. K neutralizaci byla k dispozici voda.

Hodnotitelé pomocí trojúhelníkového testu s metodou nucené volby identifikovali odlišný výrobek a popsali pomocí deskriptorů vnímání chuti a vůně (viz Hodnotící protokol Příloha PI). Trojúhelníkový test byl použit zvláště pro drůbeží a vepřovou šunku.

## 7.2 Chromatografické stanovení a podmínky analýzy

Stanovení aromatických látek v karagenanových přípravcích bylo provedeno metodou plynové chromatografie s headspace izolací a detekcí hmotnostním spektrometrem. K analýze byl použit plynový chromatograf Agilent 6890N Network GC System s autosamplerem a hmotnostním detektorem Agilent 5973 Network Mass Selective Detector od výrobce Agi-

lent Technologies (USA). Separace probíhala na kapilární koloně DB - 5ms a jako nosný plyn bylo použito helium.

K analýze byly použity vybrané šarže karagenanových přípravků č 1 a č. 2, mezi nimiž byla i problematická šarže C1. Analyzováno bylo 8 vzorků od každé suroviny a každý vzorek představoval jednu šarži. Jednotlivé vzorky byly naváženy v hmotnosti 5 g do vialek. Přehled jednotlivých šarží je uveden v kapitole 6.1.

Navážky byly vloženy do autosampleru a ihned analyzovány, aby se co nejvíce omezilo těkání aromatických látek, jelikož vialky nejsou plynotěsné. Pomocí automatického dávkovače (autosampleru), byl vzorek dávkován bez děliče toku a vzorek tak byl pozvolna dávkován do odpařovací trubice.

Po dosažení počáteční teploty 40 °C byla postupně po 5 °C teplota zvyšována na 100 °C a následně po 22 °C na konečnou teplotu 250 °C. Konečná teplota byla udržována po dobu 10 minut. Celková doba analýzy jednoho vzorku byla 32,82 minut. Teplotní průběh chromatografické analýzy je shrnut v tab. č. 4.

*Tab. 4 Teplotní průběh analýzy vzorku*

Teplotní nárůst za minutu °C/min	Konečná teplota °C
5	40
5	100
22	250

Účinnost kolony závisí na rychlosti toku nosného plynu, teplotě kolony a tloušťce stacionární fáze. Separace jednotlivých složek probíhala na kapilární koloně s označením DB - 5ms.

Pro přesné určení jednotlivých vonných látek a lepší vyhodnocení píků bylo potřebné nastavit optimální průtokovou rychlost nosného plynu kolonou. Analýza byla provedena s konstantní průtokovou rychlostí 1 ml/min.



Signál analytu, přítomném v protékajícím nosném plynu, byl v závislosti na čase zaznamenáván hmotnostním detektorem Agilent 5973 Network Mass Selective Detector. Výsledné chromatogramy vybraných šarží karagenanových přípravků jsou uvedeny v příloze III.

## 8 VÝSLEDKY A DISKUZE

V diplomové práci byly analyzovány vybrané šarže dvou karagenanových přípravků, jež každý pocházel od jiného dodavatele.

Popis chuti a vůně sledovaných šarží C1 a R1 byl získán pomocí sensorické analýzy a porovnáním samotných karagenanových přípravků. Organoleptické vlastnosti drůbeží a vepřové šunky, s přídavkem jak problematické šarže C1, tak s přídavkem neproblémové šarže R1, byly popsány panelem školených sensorických hodnotitelů.

Pomocí HS – GC/MS byl analyzován výskyt složek v karagenanových přípravcích, které by mohly být zodpovědné za nežádoucí chuť a vůni výsledného masného výrobku.

### 8.1 Vyhodnocení sensorické analýzy

Při sensorickém hodnocení chuti a vůně samotné problematické šarže C1, byla popsána chemická chuť po aditivech a vůně moře. Po srovnání chuti a vůně šarže C1 s šaržemi C2 – C8 nebyla zaznamenána žádná odchylka u sledovaných parametrů a všechny vzorky vykazovaly chemickou chuť a mořskou vůni. Deskriptory chuti a aroma hodnocených šarží jsou shrnuty v tabulce č. 5.

*Tab. 5 Deskriptory chuti a aroma hodnocených šarží, použitých při výrobě šunky*

Šarže	Chuť	Aroma
C1	chemická, po aditivech, slabě hořká,	moře
R1	hořká	moře

Při porovnání problematické šarže C1 s šarží R1 druhého přípravku, byly zaznamenány odlišnosti v chuti. Šarže C1 má v porovnání s šarží R1 lehce chemickou, slabě hořkou chuť a vůni moře. U šarže R1 je mořská vůně silnější a chuť je více hořká, než v šarži C1, ale není zde zaznamenána chemická pachůť.

K senzorické analýze byly předloženy vzorky drůbeží a vepřové šunky vyrobené s přídavkem vybraných karagenanových přípravků. Od každého druhu šunky byl vyroben jeden výrobek s přídavkem problematické šarže C1 a jeden výrobek s nahrazující šarží R1. Školení hodnotitelé měli pomocí trojúhelníkového testu identifikovat výrobek s odlišnou chutí a vůní a popsat jeho organoleptické vlastnosti. Při hodnocení se zaměřili se na popis chuti a vůně, popřípadě rozdílu mezi výrobky (viz Příloha I Hodnotící protokol).

Výsledky získané senzorickou analýzou byly statisticky vyhodnoceny. Pro vyhodnocení byla dle tabulky uvádějící minimální počet správných odpovědí požadovaných pro závěr, že existují vnímatelné rozdíly na základě trojúhelníkové zkoušky (viz Příloha II), zvolena hladina významnosti 10 %. Testy byly tedy prováděny s 90 % spolehlivostí.

U drůbeží šunky správně identifikovalo odlišný výrobek 11 z 24 školených senzorických hodnotitelů. Při 10 % hladině významnosti jsou rozdíly mezi výrobky statisticky na hraniční hodnotě a mezi výrobky je statisticky nevýznamný rozdíl. V tabulce č. 6 jsou shrnuty výsledky hodnotitelů ze senzorické analýzy vzorků drůbeží šunky.

Tab. 6 Výsledky senzorické analýzy vzorků drůbeží šunky

Triangl test	Hodnotitel č.	Rozeznán rozdíl	Popis chuti, aroma a rozdílu
<b>AAB</b>	1.	NE	Silná chemická chuť
	2.	NE	-
	3.	NE	máslový popcorn, tučná
	4.	NE	nepříjemná chuť
	5.	NE	medicinální, nahořklá chuť
	6.	NE	málo výrazná a málo kořeněná
	7.	NE	-
	8.	ANO	více sladká a méně kořeněná chuť
	9.	ANO	masová chuť
	10.	ANO	zápach rybníku
	11.	ANO	pachuť
	12.	ANO	aromatická chuť a vůně
<b>BBA</b>	13.	NE	sladká
	14.	NE	aromatictější než A
	15.	NE	-

Tab. 6 Pokračování - výsledky senzoričké analýzy vzorků drůbeží šunky

Triangl test	Hodnotitel č.	Rozeznán rozdíl	Popis chuti, aroma a rozdílu
<b>BBA</b>	16.	NE	slanější, odlišný od A
	17.	NE	sladká, medicínální
	18.	NE	bez pachutí
	19.	ANO	-
	20.	ANO	nepřirozená příchut'
	21.	ANO	lepší chuť než B
	22.	ANO	jemnější chuť než B
	23.	ANO	kouřová chuť a aroma
	24.	ANO	nasládlá chuť

Vzorek A byl hodnotiteli popsán jako málo výrazný a málo kořeněný se silnou, nahořklou, máslovou a tučnou chutí. Další deskriptory popisující chuť a aroma vzorku A jsou: nepříjemná, nepřirozená, chemická, medicínální, nasládlá a kouřová.

Vzorek B byl dle analýzy sladší a méně kořeněný, než vzorek A. Chuť vzorku B je masová, sladká, slaná a medicínální. Má aromatickou chuť a vůni připomínající rybník.

U vepřové šunky správně identifikovalo odlišný výrobek 14 z 24 školených hodnotitelů (tab. č. 7). Při 10 % hladině významnosti jsou rozdíly mezi výrobky statisticky na hraniční hodnotě a mezi výrobky je statisticky významný rozdíl.

Tab. 7 Výsledky senzoričké analýzy vzorků vepřové šunky

Triangl test	Hodnotitel č.	Rozeznán rozdíl	Popis chuti, aroma a rozdílu
<b>CCD</b>	1.	ANO	kyselá chuť
	2.	ANO	po chloru, nepřirozená příchut'
	3.	ANO	chemická chuť
	4.	ANO	žampiony, výrazná, nasládlá chuť
	5.	NE	-
	6.	NE	pachut'
	7.	NE	aroma rybníku, karagenanu

Tab. 7 Pokračování - výsledky senzoričké analýzy vzorků vepřové šunky

Triangl test	Hodnotitel č.	Rozeznán rozdíl	Popis chuti, aroma a rozdílu
CCD	8.	NE	není chemická chuť
	9.	NE	nakyslá chuť
	10.	NE	méně ostrá chuť
	11.	NE	nechutná po bahně, méně nahořklý
	12.	NE	šunkovější, masovější než D
DDC	13.	ANO	nepřirozená chuť
	14.	ANO	pachuť
	15.	ANO	pachuť
	16.	ANO	Karagenan
	17.	ANO	masová chuť
	18.	ANO	karagenan
	19.	ANO	-
	20.	ANO	výrazná chuť
	21.	ANO	masovější, šunkovější než D
	22.	ANO	méně žluklá, příjemnější než D
	23.	NE	nahořklá chuť
	24.	NE	méně výrazný a aromatický než D

Chuť vzorku C byla popsána jako nakyslá, výrazná a nepřirozená. Je méně ostrá, nahořklá a žluklá a naopak příjemnější a přirozenější v porovnání se vzorkem D. Vzorek C vykazuje rybničkovou a karagenanovou pachuť.

Hodnotitelé popsali chuť vzorku D jako výraznou, kyselou, žampionovou, nasládlou, nepřirozenou a chemickou po chloru. V porovnání se vzorkem C je chuť méně výrazná a méně aromatická.

Deskriptory použité hodnotiteli při senzoričké analýze chuti a vůně šunek jsou shrnuty v tabulce č. 8.

Tab. 8 Deskriptory chuti a aroma, použité hodnotiteli při senzorické analýze šunek

Vzorek	Šunka	
	Drůbeží	Vepřová
C1	<b>A</b>	<b>D</b>
	chemická, máslová, tučná, nepříjemná, medicínální chuť, nahořklá, málo výrazná a kořeněná, nepřírozená, jemná, kouřová, nasládlá	Chuť kyselá, po chloru, nepřírozená, chemická, po žampionech, výrazná, nasládlá, nahořklá, málo výrazná, málo aromatická
R1	<b>B</b>	<b>C</b>
	Sladká, méně kořeněná, aromatická, masová chuť, aroma rybníku, pachut', sladká, slaná chuť	Pachut', aroma rybníku, karagenan, bez chemické chuti, nakyslá, nepřírozená, málo ostrá, nechutná po bahně, méně nahořklá, šunková, masová, pachut' karagenanu

Z výsledků senzorické analýzy vzorků drůbeží a vepřové šunky je patrné, že výrobek, ve kterém byla použita problematická šarže C1, vykazuje chemickou, medicínální chuť po chloru. U výrobků, kde byla použita šarže R1, tyto chuťové vlastnosti popsány nebyly.

## 8.2 Výsledky chromatografického stanovení

Chromatografická analýza byla provedena u dvou karagenanových přípravků. Od každého přípravku bylo analyzováno 8 vybraných šarží.

V obou analyzovaných přípravcích byly na základě výskytu píků a jejich velikosti pro dané retenční časy identifikovány tyto látky:

- 2-metylpropanal,
- chloroform,
- 3-metylbutanal,
- 2-metylbutanal
- $\delta$ -3-karen.

### 2-metylpropanal

2-metylpropanal je čirá těkavá kapalina s nepříjemným zápachem. Jeho molekulová hmotnost je 72,11 g/mol a jeho sumární vzorec je  $C_4H_8O$ . 2-metylpropanal je vysoce hořlavá

kapalina s bodem vzplanutí – 19 °C. Bod tání 2-metylpropanalu je při – 65 °C a bod varu je 63 °C. Je také znám pod synonymy isobutaldehyd, isobutanal či isobutyral [97].

Studie aromatických látek v pražených výrobcích přisuzuje 2-metylpropanalu oříškové aroma. Jeho přítomnost byla prokázána v pražených burských oříšcích, zatímco v syrových 2-metylpropanal stanoven nebyl [82, 83].

2-metylpropanal byl označen jako jedna z látek tvořící aroma kávy. Spolu s jinými vonnými látkami se podílí na charakteristickém praženém aroma mleté kávy a kávových nápojů a pokles jejich koncentrace během skladování má vliv na změnu kvality aroma a chuti pražené kávy [86].

HS – GC/MS analýzou byl 2-metylpropanal identifikován v pražených semenech amarantu, kde se vyskytuje jako produkt Streckerovy degradace aminokyselin. 2-metylpropanal tvoří v pražených amarantových semenech charakteristické kukuřičné, oříškové a opékané aroma [87].

Studií zaměřenou na vonné látky obsažené v rybí omáčce byla vůně 2-metylpropanalu popsána jako výrazná, nasládlá až žluklá [77].

GC/MS analýzou těkavých látek v rybí omáčce byla, mimo jiné, prokázána přítomnost 2-metylpropanalu, jež v tomto výrobku vykazuje oříškovou vůni [92].

2-metylpropanal byl ve vyšší koncentraci zjištěn v UHT mléku, kde jeho přítomnost naznačuje, že by mohl být zodpovědný za vařivé aroma mléka. Může zde vznikat mikrobiologickou a enzymatickou cestou či v průběhu Maillardovy reakce [81, 82].

V parách rekonstituovaných bramborových granulí a v pufovaných bramborových výrobcích může být 2-metylpropanal výsledkem Streckerovy degradace aminokyselin [84].

### **Chloroform**

Chloroform je také známý pod názvy trichlormetan, trichloroform či methyl trichlorid. Jedná se o těkavou, bezbarvou, nehořlavou kapalinu nasládlého zápachu. Jeho teplota tání je

– 63 °C a teplota varu 61 °C. Chloroform je částečně rozpustný ve vodě a dobře mísitelný s organickými rozpouštědly. Molekulová hmotnost činí 119,38 g/mol a pro svou hustotu 1483 kg/m<sup>3</sup> je těžší jak voda. Sumární vzorec je CHCl<sub>3</sub> [98].

Dle HS-GC analýzy kvality syrového mléka může být přítomnost chloroformu v mléce způsobena čištěním a desinfekcí dojícího zařízení [93].

Studie aromatického profilu sušených tresek identifikovala chloroform ve všech zkoumaných vzorcích. Dle Olafsdottira a kol. pochází chloroform z polystyrenových krabic určených pro uchování tresek. [94, 95].

Analýza rybí omáčky prokázala přítomnost chloroformu, který pravděpodobně vznikl reakcí chloru s organickými sloučeninami ve vodě [92].

### 3 - metylbutanal

3-metylbutanal je také známý pod názvem isovaleraldehyd. Jedná se o bezbarvou kapalinu s jablečnou vůní, která je rozpustná ve vodě, alkoholu a etheru. Molekulová hmotnost 3-metylbutanalu je 86,16 g/mol, teplota tání je  $-51\text{ }^{\circ}\text{C}$  a teplota varu  $93\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Teplota vznícení je u 3-metylbutanalu  $210\text{ }^{\circ}\text{C}$  [99].

Analýzou vonných látek přítomných v pražených výrobcích byla prokázána přítomnost 3-metylbutanalu. V pražených burských oříšcích je 3-metylbutanalů přisuzována oříšková vůně [82, 83].

V mleté kávě je 3-metylbutanal jednou z látek, která přispívá k charakteristickému praženému aroma. Bylo prokázáno, že pokles jeho koncentrace během skladování má vliv na chuť a kvalitu aroma kávy [86].

3-metylbutanal může mít jistý vliv na organoleptické vlastnosti v UHT mléku, kde je spojován s vařivou vůní mléka. V sojovém UHT mléku vykazuje nasládlé aroma. Výskyt 3-metylbutanalu v tepelně opracovaných potravinách může být způsoben Streckerovou degradací aminokyselin či mikrobiologickou a enzymatickou aktivitou [82, 83].

Chromatografická analýza těkavých látek obsažených v pražených semenech prokázala přítomnost 3-metylbutanalu. Pravděpodobně se jedná o produkt Streckerovy degradace aminokyselin. 3-metylbutanal je v pražených semenech zodpovědný za kukuřičné, oříškové a opékané aroma [87].

Studie provádějící GC-MS analýzu vonných látek vzniklých během potenciálního mikrobiálního znehodnocení krevet prokázala, že charakteristická nakyslá, sýrová a žluklá vůně



byla převážně způsobena přítomností 3-metylbutanal. Za jeho produkci jsou zodpovědné bakterie *Brochothrix thermosphacta* a *Carnobacterium maltaromaticum* [96].

Analýzou sladového extraktu pomocí GC s olfaktometrií byla vůně 3-metylbutanal popsána jako sladová, mandlová a čokoládová. 3-metylbutanal byl charakterizován jako jedna z látek tvořící nejsilnější aroma sladu [87, 96].

Jednou z těkavých látek, které byly identifikovány v olivových olejích, byl 3-metylbutanal. V těchto výrobcích je zodpovědný za sladové aroma [85].

## 2-metylbutanal

2-metylbutanal je bezbarvá, hořlavá kapalina s pronikavým zápachem, částečně rozpustná ve vodě a rozpustná v alkoholu, etheru a acetonu. Molekulová hmotnost 2-metylbutanal je 86,13 g/mol a sumární vzorec je  $C_5H_{10}O$ . Teplota tání je u 2-metylbutanal - 90 °C a teplota varu je 92 °C. Synonymem pro 2-metylbutanal je např., butyraldehyd atd. [100].

GC – MS analýza vonných látek, které vznikly během mikrobiálního znehodnocení krevet, prokázala přítomnost 2-metylbutanal, který se v tomto případě projevuje nakyslou, sýrovou a žluklou vůní [91].

Jednou z vonných látek přítomných v rybí omáčce byl 2-metylbutanal. V tomto výrobku tvoří 2-metylbutanal výraznou, nasládlou a žluklou vůni [77].

Ve sladovém extraktu byl plynovou chromatografií identifikován 2-metylbutanal. Jeho vůně byla popsána pomocí olfaktometrie jako sladová, sýrová a jablečná. 2-metylbutanal byl uveden jako jedna z látek tvořící nejsilnější aroma sladu [87, 96].

Studie těkavých látek obsažených v olivových olejích prokázala, že za sladovou vůni v olivových olejích je mimo jiné zodpovědný i 2-metylbutanal [85].

Pomocí plynové chromatografie byly analyzovány aromatické látky v tepelně upravených oříchách. Mimo jiné byla prokázána přítomnost 2-metylbutanal, jehož aroma bylo popsáno jako čokoládové a sladové [88].

V kávě má 2-metylbutanal vliv na charakteristické pražené aroma a jeho pokles ovlivňuje kvalitu aroma a chuť kávy [86].

Mezi těkavé látky praženého amarantu patří mimo jiné i 2-metylpropanal, jež je zde produktem Streckerovy degradace aminokyselin. Svou přítomností přispívá k charakteristické oříškové a opékané vůni pražených semen [87].

2-metylbutanal byl charakterizován jako jedna z těkavých složek UHT sojového mléka, kde přispívá k nasládlé vůni [52].

### **δ-3-karen**

δ-3-karen je čirá bezbarvá až nažloutlá kapalina se sladkou vůní, která je rozpustná v organických rozpouštědlech ale je nerozpustná ve vodě. Řadí se mezi terpeny a jeho sumární vzorec je  $C_{10}H_{16}$ . Molekulová hmotnost činí 136 g/mol a teplota tání je v teplotním rozmezí – 169 / - 174 °C a teplota varu se pohybuje v teplotách kolem 166 / 170 °C [101].

Studii aromatických látek ve vybraných druzích manga byl mimo jiné identifikován δ-3-karen, jež má sladkou citrusovou vůni [90].

Zkoumáním aromatických látek přítomných v mangovém víně, které vzniklo působením kvasinek kmene *Saccharomyces cerevisiae*, byla zjištěna přítomnost δ-3-karenu. Je mu zde přisuzována drsná vůně připomínající jehličnany [102].

Vonné látky a popis jejich vůně ve vybraných potravinách jsou shrnuty v tabulce č. 9.

*Tab. 9 Charakteristika vonných látek podle vnímání vůně ve vybraných potravinách*

<b>Identifikovaná látka</b>	<b>Vůně</b>
2-metylpropanal	Oříšková (pražená semena, rybí omáčka), pražená (káva), nasládlá, žluklá (rybí omáčka), kukuřičná (pražená semena), vařivá (mléko)
3-metylbutanal	Oříšková (pražené výrobky), pražená, opékaná (káva, pražená semena), nakyslá, sýrová, žluklá (krevety), sladová (olivový olej, slad), mandlová, čokoládová (slad), vařivá (mléko)

Tab. 9 Pokračování - Charakteristika vonných látek podle vnímání vůně ve vybraných potravinách

Identifikovaná látka	Vůně
2-metylbutanal	Oříšková, čokoládová (pražená semena), opékaná, pražená (káva, pražená semena), nasládlá (UHT sojové mléko, rybí omáčka), sladová (slad, olivový olej, pražená semena), sýrová (krevety, slad), jablečná (slad), žluklá (rybí omáčka), nakyslá (krevety)
chloroform	Nasládlá, chemická, nemocniční, desinfekční prostředky (rybí produkty)
$\delta$ -3-karen	sladká, citrusová (mango), drsná, jehličnatá (mangové víno)

### 8.2.1 Vyhodnocení výsledků analýzy karagenanových přípravků

U identifikovaných píků bylo sledováno zastoupení složky ve vzorku, což je dáno procentuálním vyjádřením plochy jednotlivého píku, tedy poměrem plochy píku k celkové ploše všech píků v dané šarži, které byly popsány. Jako další hodnotící parametr byla brána v úvahu i výška píku, která také může pomoci definovat zastoupení složky ve vzorku. Hodnocení a porovnávání výsledků analýzy jednotlivých šarží bylo zaměřeno převážně na nejvyšší a nejnižší naměřené hodnoty. Následně byly výsledky porovnány s průměrnými hodnotami daných parametrů.

Při hodnocení výsledků analýzy přípravku č. 1 Ceamgel byly naměřené hodnoty u jednotlivých šarží C1 – C8 porovnány jak mezi sebou, tak s průměrnými hodnotami sledovaných parametrů. Následně byly porovnány výsledky problematické šarže C1 s výsledky ostatních šarží C2 – C8.

Naměřené hodnoty pro sledované parametry píků a identifikované aromatické látky v analyzovaných šaržích pro dané retenční časy u přípravku č. 1 Ceamgel, jsou uvedeny v tabulkách 10 - 14.

Tab. 10 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 2,20 – 2,40 min

Ceangel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
1.	2,20 – 2,40	2-metylpropanal	C1	21,20	5430
			C2	22,90	5743
			C3	24,23	3446
			C4	24,32	4247
			C5	15,45	2843
			C6	21,74	3600
			C7	19,07	3778
			C8	15,04	3031
			<b>Průměr</b>	<b>20,45</b>	

Přítomnost 2-metylpropanalu byla prokázána ve všech šaržích přípravku č. 1 a jeho zastoupení je zde v rozmezí 15,04 – 24,32 %.

Největší zastoupení 2-metylpropanalu je v šarži C3, naopak nejmenší zastoupení je u šarže C8. Největší výšky dosahuje pík č. 1 v šarži C2 a nejmenší pík byl změřen u šarže C5.

Zastoupení 2-metylpropanalu je u problematické šarže C1 menší než u šarží C2, C3, C4 a C6, ale v porovnání s šaržemi C5, C7 a C8 je u šarže C1 zastoupení 2-metylpropanalu větší. Výška píku č. 1 je u šarže C1 druhá nejvyšší, větší než u šarží C3 – C8.

V porovnání s průměrným procentuálním zastoupením 2-metylpropanalu v analyzovaných šaržích je procentuální zastoupení 2-metylpropanalu u šarže C1 větší.

Tab. 11 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 2,70 – 2,80 min

Ceangel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
2.	2,70 – 2,80	Chloroform	C1	17,29	4989
			C2	22,87	6595
			C3	-	-
			C4	19,78	3860
			C5	-	-
			C6	-	-
			C7	19,76	4878
			C8	-	-
			<b>Průměr</b>	<b>19,93</b>	

Chloroform byl prokázán v šaržích C1, C2, C4 a C7 přípravku č. 1, kde je jeho zastoupení v rozmezí 17,29 – 22,87 %.

U šarží C3, C6 a C8 byl v retenčním čase odpovídajícím píku chloroformu zjištěn pík složky, která ovšem nebyla identifikována jako chloroform s dostatečnou jistotou. V šarži C5 nebyl tento pík vůbec přítomný.

Největší zastoupení chloroformu je v šarži C2, ve které je pík zároveň nejvyšší. Naopak nejmenší zastoupení má chloroform u problematické šarže C1. V této šarži je ovšem pík chloroformu jako druhý nejvyšší. U šarže C4 je zastoupení chloroformu druhé největší, ale výška píku je zde nejmenší.

Zastoupení chloroformu u problematické šarže C1 je nejmenší v porovnání s ostatními šaržemi, ve kterých byla přítomnost chloroformu jednoznačně prokázána. Výška píku šarže C1 je druhá nejvyšší, vyšší než u šarží C4 a C7. V porovnání s výškou píku u šarže C2 je výška píku chloroformu u šarže C1 nižší.

Hodnota průměrného zastoupení chloroformu v analyzovaných šaržích je vyšší než hodnota zastoupení chloroformu v šarži C1.

Tab. 12 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 3,10 – 3,15 min

Ceanggel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
3.	3,10 – 3,15	3-metylbutanal	C1	24,05	6108
			C2	21,91	5941
			C3	30,48	4225
			C4	26,30	5098
			C5	23,42	3204
			C6	25,67	3482
			C7	19,32	4832
			C8	14,88	2047
			<b>Průměr</b>	<b>23,25</b>	

Ve všech analyzovaných šaržích přípravku č. 1 byla prokázána přítomnost 3-metylbutanalů a jeho zastoupení zde je v rozmezí 14,88 – 30,48 %.

Největší zastoupení má 3-metylbutanal v šarži C3, naopak nejmenší jeho zastoupení má šarže C8. Největší pík složky 3-metylbutanal je pozorován u šarže C1 a nejnižší pík byl změřen u šarže C8.

U šarže C8 jsou hodnoty procentuálního zastoupení i výšky píku v porovnání s ostatními šaržemi nejmenší. Pík 3-metylbutanal u šarže C8 je téměř 3x menší, než u šarže C1 a jeho procentuální zastoupení je 2x menší než u šarže C3.

Zastoupení 3-metylbutanal je u problematické šarže C1 větší než u šarží C2, C5, C7 a C8. V porovnání se zastoupením 3-metylbutanal v šaržích C3, C4 a C6 je u šarže C1 3-metylbutanal zastoupen méně. Výška píku 3-methylbutanal je u šarže C1 největší v porovnání ostatními šaržemi přípravku č. 1.

Průměrné hodnoty sledovaných parametrů jsou menší, než sledované hodnoty u šarže C1. Procentuální zastoupení 3-metylbutanal v šarži C1 se blíží průměrnému procentuálnímu zastoupení 3-metylbutanal v analyzovaných šaržích.

Tab. 13 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 3,20 – 3,35 min

Ceamgel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
4.	3,20 – 3,35	2-metylbutanal	C1	14,18	3815
			C2	15,44	4259
			C3	15,44	2266
			C4	13,87	3053
			C5	13,08	1954
			C6	-	-
			C7	11,29	2348
			C8	11,04	1333
			<b>Průměr</b>	<b>13,58</b>	

Přítomnost 2-metylbutanal byla prokázána ve všech šaržích přípravku č. 1, kromě šarže C6. V této šarži byl zjištěn pík odpovídající retenčnímu času 2-metylbutanal, ale identifikovaná složka nebyla jako s jistotou prokázána jako 2-methylbutanal. V šaržích, kde byla jeho přítomnost s jistotou prokázána, má 2-methylbutanal zastoupení v rozmezí 11,04 – 15,44 %.

Největší zastoupení 2-metylbutanalů je v šarži C2 a C3, kde jsou naměřené hodnoty shodné. U šarže C2 je pík č. 4 nejvyšší. Nejmenší zastoupení 2-metylbutanalů a zároveň nejnižší pík je pozorován u šarže C8. V porovnání s nejvyšším píkem, byl pík šarže C8 3x menší.

U šarže C1 je zastoupení 2-metylbutanalů třetí největší, větší než u šarží C5, C7 a C8, ale menší než u šarží C2 a C3. Výška píku u šarže C1 je menší než u šarže C2, ale v porovnání s ostatními šaržemi je pík šarže C1 vyšší.

Průměrná hodnota procentuálního zastoupení 2-metylbutanalů je menší, než hodnota procentuálního zastoupení 2-metylbutanalů u problematické šarže C1.

Tab. 14 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 13,75 – 13,87 min

Ceangel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
5.	13,75 – 13,87	$\delta$ -3-karen	C1	23,28	2858
			C2	16,87	2713
			C3	29,85	2675
			C4	15,74	2401
			C5	48,04	4449
			C6	52,59	6405
			C7	30,57	3851
			C8	59,03	4561
			<b>Průměr</b>	<b>34,50</b>	

Přítomnost  $\delta$ -3-karenu byla prokázána ve všech šaržích přípravku č. 1 a jeho zastoupení v zde je v rozmezí 15,74 – 59,03 %. U této složky jsou rozdíly naměřených hodnot mezi některými šaržemi velmi výrazné.

Největší zastoupení má  $\delta$ -3-karen u šarže C8. Poté následuje šarže C6, u které je pík nejvyšší. Nejmenší zastoupení a výšku píku má  $\delta$ -3-karen u šarže C4. Jeho zastoupení je u šarže C4 bezmála 4x menší než u šarže C8, kde je zastoupení největší. Výška píku č. 5 je u šarže C4 skoro 3x menší než u šarže C6.

V problematické šarži C1 je zastoupení  $\delta$ -3-karenu třetí nejmenší. Je menší než u šarží C3 a C5 – C8, ale větší než u šarží C2 a C4. Výška píku je u šarže C1 čtvrtá největší. Procentuální zastoupení  $\delta$ -3-karenu je v šarži C1 menší, než je jeho průměrné procentuální zastoupení v analyzovaných šaržích.

Výsledky analýzy byly následně porovnány z hlediska obsahu identifikovaných látek v jednotlivých šaržích C1 – C8:

### **Šarže C1:**

V problematické šarži C1 má největší zastoupení látka 3–metylbutanal. Tento pík je zároveň nejvyšší a lze předpokládat, že 3–metylbutanal je v šarži C1 zastoupen v největším množství.

Druhé největší zastoupení v této šarži má  $\delta$ -3-karen, i když je výška jeho píku nejmenší. Porovnáním hodnot píku  $\delta$ -3-karenu s hodnotami 2–metylpropanalu, jehož zastoupení je v šarži třetí největší, je pravděpodobně  $\delta$ -3-karen ve vzorku obsažen v menším nebo přibližně stejném množství jako 2–metylpropanal.

Dle naměřených hodnot u chloroformu lze usuzovat, že je tato látka v šarži druhá nejméně zastoupená.

Nejnižší procenta zastoupení byly naměřeny u 2–metylbutanal, a je tedy v šarži obsažen v nejmenší míře.

### **Šarže C2:**

Nejvyšší hodnoty sledovaných parametrů byly v šarži C2 naměřeny u píku 2–metylpropanalu a chloroformu. Procentuální zastoupení těchto dvou látek jsou téměř shodná, proto je nutné přihlídnout k výšce píku. Vyšší pík je pozorován u chloroformu.

Zastoupení 3–metylbutanal v šarži C2 je v pořadí třetí největší a je zřejmé, že jeho obsah je v šarži menší než obsah 2–metylpropanalu a chloroformu.

Nejnižší hodnoty obou sledovaných parametrů mají látky 2–metylbutanal a  $\delta$ -3-karen, přičemž procentuální zastoupení 2–metylbutanal je v šarži C2 nejmenší.

### **Šarže C3:**

V šarži C3 má nejvyšší hodnoty obou parametrů látka 3–metylbutanal a jeho množství je v této šarži největší.



Druhé největší zastoupení v šarži C3 má  $\delta$ -3-karen, čemuž odpovídá i jeho obsah v šarži. Zastoupení 2-metylpropanalu v šarži C3 je třetí největší.

Naměřené hodnoty u 2-metylbutanalů jsou v porovnání s hodnotami ostatních píků nejnižší a nejnižší je tedy i jeho obsah v šarži.

U retenčního času odpovídajícímu píku chloroformu byl identifikován pík složky, která nebyla s dostatečnou jistotou prokázána jako chloroform.

#### **Šarže C4:**

Dle hodnot sledovaných parametrů je 3-metylbutanal nejvíce zastoupenou látkou v šarži C4. Druhou nejvíce obsaženou látkou je 2-metylpropanal, neboť jeho hodnoty procentuálního zastoupení a výšky píku jsou druhé největší.

Třetí složkou, z hlediska zastoupení a výšky píku, je chloroform. Po něm následuje  $\delta$ -3-karen, u kterého byl změřen nejnižší pík.

Nejmenší zastoupení je pozorováno u 2-metylbutanalů, což znamená, že je v analyzované šarži přítomen v nejnižší míře.

#### **Šarže C5:**

Jednoznačně největší zastoupení a výšku píku u šarže C5, má látka  $\delta$ -3-karen a jeho obsah v této šarži je v porovnání s ostatními identifikovanými látkami největší.

Procentuální zastoupení i výška píku 3-metylbutanalů je o polovinu menší, než je procentuální zastoupení a výška píku u  $\delta$ -3-karenu a jeho obsah v šarži je tedy nižší.

Z hlediska naměřených hodnot sledovaných parametrů píku a od nich odvozeného obsahu látky v šarži, je 2-metylpropanal třetím v pořadí.

Nejnižší hodnoty obou sledovaných parametrů byly naměřeny u píku 2-metylbutanalů a jeho obsah je v šarži nejnižší.

Pík, který odpovídal retenčnímu času chloroformu, v šarži C5 chyběl.

**Šarže C6:**

U šarže C6 byly jednoznačně identifikovány pouze látky 2–metylpropanal, 3–metylbutanal a  $\delta$ -3-karen. Pro retenční časy chloroformu a 2–metylbutanalů jsou patrné píky složek, které nebyly s dostatečnou jistotou prokázány jako chloroform a 2–metylbutanal.

Výrazně vyšší hodnoty sledovaných parametrů, než byly naměřeny u ostatních identifikovaných píků, jsou u látky  $\delta$ -3-karen. Procentuální zastoupení  $\delta$ -3-karenu je 2x větší v porovnání s procentuálním zastoupením zbylých dvou látek. Výška píku je také bezmála 2x větší a  $\delta$ -3-karen je tedy v šarži obsažen v největší míře.

Zastoupení 3–metylbutanalů je v šarži C6 větší, než zastoupení 2–metylpropanalů, a 3–metylbutanal je tedy obsažen v šarži ve větším množství.

Nejmenší procentuální zastoupení v šarži má 2–metylpropanal. I když je výška jeho píku nepatrně vyšší než u píku 3–metylbutanalů, dle procentuálního zastoupení je v šarži C6 obsažen nejméně.

**Šarže C7:**

V šarži C7 bylo identifikováno všech pět zkoumaných látek, přičemž největší obsah zde má  $\delta$ -3-karen, neboť jeho procentuální zastoupení v šarži je jednoznačně největší.

Látky chloroform a 3–metylbutanal mají velice blízké hodnoty obou sledovaných parametrů a je tedy možné, že se v dané šarži vyskytují v přibližně stejné míře. Hodnota procentuálního zastoupení 2–metylpropanalů je jen nepatrně nižší než u chloroformu a 3–metylbutanalů a jeho obsah bude tedy v šarži menší, než je obsah výše zmíněných látek.

Nejnižší hodnoty obou sledovaných parametrů má 2–metylbutanal, a jeho obsah je v této šarži nejnižší.

**Šarže C8:**

Kromě chloroformu byly v šarži C8 identifikovány všechny zkoumané látky. V retenčním čase odpovídajícímu chloroformu byla analyzována látka, o níž nelze s dostatečnou jistotou říci, že je chloroform.

Procentuální zastoupení  $\delta$ -3-karenu je v šarži C8 téměř 60 % a výška jeho píku je rovněž největší a obsah  $\delta$ -3-karenu je v této šarži nejvyšší.

Druhé největší procentuální zastoupení a výšku píku má 2–metylpropanal a po něm následuje 3–metylbutanal. Hodnoty těchto dvou látek jsou blízké a je tedy možné, že jejich množství v šarži C8 bude téměř stejné.

2–metylbutanal má nejnižší hodnoty obou sledovaných parametrů. Jeho procentuální zastoupení je 5x menší, než procentuální zastoupení  $\delta$ -3-karenu. Obsah 2–metylbutanalu je tedy v šarži C8 nejmenší.

Porovnáním naměřených hodnot u sledovaných látek stanovených v jednotlivých šaržích přípravku č. 1 Ceangel bylo zjištěno:

- 3–metylbutanal má největší zastoupení v šaržích C1, C3 a C4,
- $\delta$ -3-karen je nejvíce obsaženou látkou v šaržích C5 – C8,
- chloroform má největší zastoupení v šarži C2.

### 8.2.2 Vyhodnocení výsledků analýzy přípravku Ricogel

Při hodnocení výsledků analýzy přípravku č. 2 Ricogel byly naměřené hodnoty u jednotlivých šarží R1 – R8 porovnány jak mezi sebou, tak s průměrnými hodnotami sledovaných parametrů.

Naměřené hodnoty pro sledované parametry píků a identifikované aromatické látky v analyzovaných šaržích pro dané retenční časy u přípravku č. 2 Ricogel, jsou uvedeny tabulkách 15 - 18.

Tab. 15 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 2,20 – 2,40 min

Ricogel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
1.	2,20 – 2,40	2-metylpropanal	R1	-	-
			R2	-	-
			R3	15,72	13623

Tab. 15 Pokračování - Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 2,20 – 2,40 min

Ricogel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
1.	2,20 – 2,40	2-metylpropanal	R4	14,71	13736
			R5	13,89	13716
			R6	18,43	17047
			R7	36,80	34669
			R8	22,30	27106
			<b>Průměr</b>	<b>20,31</b>	

Přítomnost 2 - metylpropanalu byla u přípravku č. 2 s dostatečnou jistotou prokázána pouze v šaržích R3 – R8. U šarží R1 a R2 byl v retenčním čase odpovídajícím píku 2-metylpropanalu zjištěn pík složky, která ale nebyla identifikována jako 2–metylpropanal s dostatečnou jistotou. V šaržích, kde byla jeho přítomnost s jistotou prokázána, má 2–metylpropanal zastoupení v rozmezí 13,89 – 36,80 %.

Největší zastoupení 2-metylpropanalu bylo v šarži R7, kde má zároveň i nejvyšší pík. Naopak nejmenší zastoupení má 2-metylpropanal u šarže R5. Nejmenší pík 2-metylpropanalu byl změřen u šarže R3.

Tab. 16 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 2,70 – 2,80 min

Ricogel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
2.	2,70 – 2,80	Chloroform	R1	53,77	13175
			R2	46,98	15637
			R3	47,22	39432
			R4	45,60	39765
			R5	45,69	38886
			R6	44,80	35697
			R7	33,25	35987
			R8	51,97	45187
			<b>Průměr</b>	<b>46,16</b>	

Ve všech analyzovaných šaržích přípravku č. 2 byla prokázána přítomnost chloroformu, jehož procentuální zastoupení je zde v rozmezí 44,80 - 53,77 %.

Největší procentuální zastoupení chloroformu je v šarži R1, ale tento pík je v porovnání s ostatními nejnižší. V šarži R8 je pík chloroformu nejvyšší a jeho procentuální zastoupení je druhé největší. V porovnání s výškou píku šarže R1, je pík šarže R8 téměř 3,5 x vyšší. Nejmenší zastoupení má chloroform u šarže R7.

Tab. 17 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 3,10 – 3,15 min

Ricogel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
3.	3,10 – 3,15	3-metylbutanal	R1	14,13	3813
			R2	15,57	4568
			R3	21,37	16966
			R4	20,73	16900
			R5	20,31	18030
			R6	17,93	16565
			R7	12,26	11456
			R8	13,56	16325
			<b>Průměr</b>	<b>16,98</b>	

Přítomnost 3–metylbutanalů byla prokázána ve všech analyzovaných šaržích přípravku č. 2 a jeho procentuální zastoupení je zde v rozmezí 13,56 - 21,37 %.

Největší procentuální zastoupení má 3-metylbutanal v šarži R3, naopak nejmenší procentuální zastoupení má u šarže R7. Nejvyšší pík 3–metylbutanalů je pozorován rovněž u šarže R3 a nejnižší pík byl změřen u šarže R1. U šarže R1 je výška píku v porovnání s nejvyšším píkem šarže R3 téměř 4,5 x menší.

Tab. 18 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 3,20 – 3,35 min

Ricogel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
4.	3,20 – 3,35	2-metylbutanal	R1	-	-
			R2	12,58	2540
			R3	10,59	7452
			R4	10,15	8204
			R5	9,39	7821

Tab. 18 Pokračování - Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 3,20 – 3,35 min

Ricogel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
4.	3,20 – 3,35	2-metylbutanal	R6	8,72	7294
			R7	7,31	6746
			R8	7,20	7919
			<b>Průměr</b>	<b>9,42</b>	

Přítomnost 2-metylbutanalů byla prokázána ve všech šaržích přípravku č. 2, kromě šarže R1. V této šarži byl zjištěn pík odpovídající retenčnímu času 2-metylbutanalů, ale identifikovaná složka nebyla jako s jistotou prokázána jako 2-metylbutanal. V šaržích, kde byla jeho přítomnost s jistotou prokázána, má 2-metylbutanal zastoupení v rozmezí 7,20 – 12,58 %.

Největší zastoupení 2-metylbutanalů je v šarži R1. V této šarži je ale pík 2-metylbutanalů nejmenší. Naopak u šarže R8 je zastoupení 2-metylbutanalů nejmenší, ale jeho pík je v porovnání s píky ostatních šarží nejvyšší. Výška píku č. 4 je u šarže R1 4x menší než výška píku v šarži R8.

Tab. 19 Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 13,75 – 13,87 min

Ricogel					
Pík č.	RT (min)	Identifikovaná látka	Šarže	Zastoupení (%)	Výška (mm)
5.	13,75 – 13,87	$\delta$ -3-karen	R1	32,11	4551
			R2	24,86	3411
			R3	5,09	4164
			R4	8,81	4155
			R5	10,72	4285
			R6	10,12	4677
			R7	10,38	4371
			R8	4,97	3448
			<b>Průměr</b>	<b>13,38</b>	

Přítomnost  $\delta$ -3-karenu byla prokázána ve všech šaržích přípravku č. 2 a jeho zastoupení zde je v rozmezí 4,97 – 32,11 %. U této složky jsou rozdíly naměřených hodnot mezi některými šaržemi velmi výrazné.

Největší procentuální zastoupení má  $\delta$ -3-karen v šarži R1, u které je tento pík zároveň druhý nejvyšší. Nejmenší procentuální zastoupení má  $\delta$ -3-karen v šarži R8, kde je současně druhý nejnižší. Procentuální zastoupení  $\delta$ -3-karenu je u šarže R8 bezmála 6,5x menší než u šarže R1. Nejnižší pík je u šarže R2 a nejvyšší u šarže R6.

Výsledky analýzy byly následně porovnány z hlediska obsahu identifikovaných látek v jednotlivých šaržích R1 – R8:

### **Šarže R1:**

U šarže R1 byly jednoznačně identifikovány pouze látky chloroform, 3 - metylbutanal a  $\delta$ -3-karen. Pro retenční časy 2-metylpropanalu a 2-metylbutanal byly patrné píky složek, které nebyly s dostatečnou jistotou prokázány jako 2-metylpropanal a 2-metylbutanal.

V šarži R1 má největší zastoupení chloroform a jeho pík je zároveň nejvyšší. Chloroform je tedy v šarži R1 zastoupen v největším množství.

Druhé největší zastoupení a výšku píku má  $\delta$ -3-karen. Po chloroformu je  $\delta$ -3-karen druhou nejobsáhlejší identifikovanou složkou v šarži R1.

Nejnižší hodnoty sledovaných parametrů byly naměřeny u 3-metylbutanal, což naznačuje, že je v šarži obsažen v nejmenší míře.

### **Šarže R2:**

Nejvyšší hodnoty obou sledovaných parametrů byly v šarži R2 jednoznačně naměřeny u chloroformu a jeho obsah je tedy v šarži největší. Zastoupení chloroformu je téměř 2x větší, než zastoupení  $\delta$ -3-karenu.

Druhé největší zastoupení má v šarži R2  $\delta$ -3-karen a po chloroformu je zde druhou nejobsáhlejší látkou. 3-metylbutanal je z hlediska obsahu v šarži R2 dle naměřených hodnot třetí v pořadí.

Nejnižší hodnoty obou sledovaných parametrů má 2-metylbutanal a jeho obsah je v šarži R2 nejmenší.

U retenčního času odpovídajícímu píku 2-metylpropanalu byl identifikován pík složky, která nebyla s dostatečnou jistotou prokázána jako chloroform.

### **Šarže R3:**

V šarži R3 má největší zastoupení a výšku píku chloroform a jeho množství je v této šarži největší. Jeho procentuální zastoupení je 2x větší, než procentuální zastoupení 3-metylbutanal.

Druhé největší procentuální zastoupení v šarži má 3-metylbutanal, čemuž odpovídá i jeho obsah v šarži R3. Zastoupení 2-metylpropanalu v šarži R3, je třetí největší, po něm následuje v pořadí 2-metylbutanal.

Hodnoty sledovaných parametrů  $\delta$ -3-karenu jsou v porovnání s hodnotami ostatních píků nejnižší. Nejnižší je tedy i jeho množství v šarži.

### **Šarže R4:**

Výrazně nejvyšší hodnoty obou sledovaných parametrů má chloroform a tudíž je nejvíce obsaženou látkou v šarži R4.

Dle naměřených hodnot je druhou nejvíce obsaženou látkou 3-metylbutanal, neboť hodnoty jeho procentuálního zastoupení a výšky píku jsou druhé největší. V porovnání s procentuálním zastoupením chloroformu, má 3-metylbutanal procentuální zastoupení 2x menší.

Třetí složkou, z hlediska zastoupení je 2-metylpropanal a po něm následuje 2-metylbutanal. Nejmenší zastoupení má v šarži R4  $\delta$ -3-karen a v analyzované šarži je přítomen v nejnižší míře.

### **Šarže R5:**

Jednoznačně největší zastoupení a výšku píku u šarže R5 má chloroform a jeho obsah je v šarži v porovnání s ostatními identifikovanými látkami největší.

Procentuální zastoupení i výška píku 3-metylbutanal je 2x menší, než je procentuální zastoupení a výška píku u chloroformu. Nižší je tedy i jeho obsah v šarži.



Z hlediska naměřených hodnot sledovaných parametrů a od nich odvozeného pravděpodobného obsahu látky v šarži, je 2–metylpropanal třetím v pořadí.

Čtvrtou látkou, z hlediska obsahu v analyzované šarži, je  $\delta$ -3-karen. Jeho zastoupení je o více než jedno procento větší než zastoupení 2-metylbutanal, ale jeho výška píku je 1,5x menší než výška píku 2–metylbutanal, který má v šarži R5 zřejmě nejmenší obsah.

#### **Šarže R6:**

Chloroform má v šarži téměř 45% zastoupení a výška jeho píku je jednoznačně největší. Obsah chloroformu je tedy v této šarži nejvyšší.

Druhé největší zastoupení a výšku píku má 2–metylpropanal a po něm následuje 3–metylbutanal. Hodnoty těchto dvou látek jsou blízké, rozdíl v zastoupení v šarži činí pouze 0,5 % a je tedy možné, že jejich množství v šarži R6 bude velmi podobné.

2–metylbutanal a  $\delta$ -3-karen jsou dle velikosti hodnot procentuálního zastoupení pravděpodobně nejméně obsažené látky v šarži R6. Zastoupení  $\delta$ -3-karenu je o více než jedno procento větší než zastoupení 2–metylbutanal, ale výška jeho píku je 1,5 x menší než výška píku 2–metylbutanal.

#### **Šarže R7:**

V šarži R7 bylo identifikováno všech pět zkoumaných látek, přičemž největší zastoupení v šarži má 2-metylpropanal, neboť jeho procentuální zastoupení je zde největší.

Hodnoty procentuálního zastoupení chloroformu jsou jen nepatrně nižší než hodnoty u 2–metylpropanalu a jeho obsah bude tedy v šarži menší.

Třetí nejvíce obsaženou látkou v analyzované šarži je z hlediska procentuálního zastoupení 3-metylbutanal, následuje  $\delta$ -3-karen. Nejmenší zastoupení má v šarži 2–metylbutanal a jeho obsah je v této šarži nejnižší.

#### **Šarže R8:**

Výrazně nejvyšší hodnoty obou sledovaných parametrů vykazuje pík chloroformu. Jeho zastoupení je více než 2x větší v porovnání se zastoupením 2-metylpropanalu. Výška jeho

píku je také bezmála 2x větší. Chloroform je tedy v šarži R8 obsažen v největší míře. Druhé největší zystoupení má 2–metylpropanal.

Zastoupení 3–metylbutanal je větší, než zastoupení 2–metylpropanalu a 3–metylbutanal je v šarži R8 ve větším množství. Nejmenší zastoupení má  $\delta$ -3-karen a lze předpokládat, že je v šarži R8 obsažen nejméně.

Porovnáním naměřených hodnot u sledovaných látek stanovených v jednotlivých šaržích přípravku č. 2 Ricogel bylo zjištěno:

- chloroform má největší obsah ve všech analyzovaných šaržích, kromě šarže R7
- 2-metylpropanal je nejvíce obsaženou látkou v šarži R7.

Vzhledem k tomu, že do masných výrobků podléhajícím sensorické analýze byly přidány šarže C1 přípravku č. 1 a šarže R1 přípravku č. 2, a na základě toho byly hodnoceny chuťové a organoleptické vlastnosti výrobku, byly porovnány výsledky chromatografické analýzy i mezi těmito šaržemi.

V šarži C1 byly stanoveny všechny identifikované látky, na rozdíl od šarže R1, kde nebyla s dostatečnou jistotou prokázána přítomnost 2–metylpropanalu a 2–metylbutanal.

V šarži C1 je v největší míře obsažen 3–metylbutanal, kdežto v šarži R1 má největší plochu pík chloroformu. Chloroform tvoří v šarži C1 druhý nejmenší pík. Stejně jako u šarže C1 má i v šarži R1 druhou největší plochu pík  $\delta$ -3-karenu.

## ZÁVĚR

Karagenany jsou vysokomolekulární lineární polysacharidy, extrahované z červených mořských řas rodů *Euchema*, *Chondrus* a *Gigartina*. V potravinářství našly  $\iota$ ,  $\kappa$  a  $\lambda$  karagenany uplatnění jako zahušřovadla, stabilizátory a želírující látky. Organoleptické vlastnosti karagenanů jsou závislé na počtu sulfátových skupin, teplotě, pH a obsahu některých iontů.

K pomocným kontrolním metodám kvality potravin patří sensorická analýza. Kontrolní orgány ji využívají jako součást hygienického dozoru při výrobě a distribuci potravin. Metody sensorické analýzy nelze nijak nahradit, protože pomocí sensorické analýzy se měří počítky a vjemy, kdežto instrumentálními metodami se měří podněty (fyzikální či chemické vlastnosti výrobku). Instrumentální metody lze použít jen tehdy, pokud je znám vztah mezi intenzitou podnětu a charakterem vjemu.

Vonné látky, které se stanovují nejčastěji pomocí plynové chromatografie, působí na čichové receptory. V potravinách jsou přítomny v nízkých koncentracích, ale obvykle ve velkém počtu. Výsledné aroma potraviny je pak tvořeno velkým počtem vonných složek a jen zřídka lze aroma potraviny přisuzovat jedné či několika málo složkám. Aromatické látky mohou v potravinách interagovat s dalšími složkami potravin, jako jsou proteiny, sacharidy a lipidy.

Plynová chromatografie je separační metoda, oddělující jednotlivé složky obsažené ve vzorku, pomocí nosného plynu. Tuto metodu lze použít i pro separaci těkavých látek. V plynové chromatografii má nezastupitelný význam detekce hmotnostním spektrometrem. GC/MS je využívána při identifikaci neznámých složek ve směsi. Spojením mezi chemickou analýzou a sensorickou analýzou je plynová chromatografie s olfaktometrií.

V diplomové práci byly sensorickým hodnocením samostatných šarží C1 a R1 karagenanových přípravků Ceangel a Ricogel a jejich následným porovnáním, zjištěny odchylky. Šarže C1, na kterou se vztahuje reklamace odběratele, vykazuje chemickou chuť po aditivách. U šarže R1, jež byla použita jako náhrada za surovinu C1, tato chuť popsána nebyla.

Sensorickou analýzou drůbeží a vepřové šunky byl při 10% hladině významnosti u vepřové šunky zjištěn statisticky významný rozdíl mezi vzorky. U drůbeží šunky je při 10 % hladině významnosti rozdíl mezi vzorky statisticky nevýznamný. U výrobků, ve kterých byla použita problematická šarže C1, hodnotitelé použili deskriptory popisující chemickou, medic-

nální chuť a vůni po chloru. U výrobků, kde byla použita jiná šarže, tyto deskriptory hodnotitelé nevnímali.

Chromatografickým stanovením technikou HS – GC/MS byly v obou přípravcích (Ceamingel a Ricogel) identifikovány tyto vonné látky: 2-metylpropanal, chloroform, 3-metylbutanal, 2-metylbutanal a  $\delta$ -3-karen.

Při porovnání výsledků analýzy u sledovaných šarží C1 a R1 bylo zjištěno, že v šarži C1 byly stanoveny všechny námi vybrané složky, na rozdíl od šarže R1, kde nebyla s dostatečnou jistotou prokázána přítomnost 2-metylpropanalu a 2-metylbutanal. V šarži C1 je v největší míře obsažen 3-metylbutanal, kdežto v šarži R1 má největší zastoupení chloroform. Stejně jako u šarže C1 má i v šarži R1 druhé největší zastoupení  $\delta$ -3-karen.

Porovnáním výsledků analýzy mezi šaržemi C1 – C8 přípravku Ceamingel bylo zjištěno, že 3-metylbutanal má největší zastoupení v šaržích C1, C3 a C4,  $\delta$ -3-karen je nejvíce obsaženou látkou v šaržích C5 – C8 a chloroform má největší zastoupení v šarži C2.

Na základě výsledků naší analýzy technikou HS – GC/MS nelze zatím přesně identifikovat problematickou složku, která by byla zodpovědná za vnímané nežádoucí sensorické vjemy v masném výrobku. Do budoucna by bylo vhodné využít GC-MS analýzu v kombinaci s jinými metodami analýzy, např. olfaktometrií popřípadě zvolit i jiné podmínky pro extrakci a analýzu složek.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PHILLIPS, G. O., WILLIAMS P. A. *Handbook of hydrocolloids*. 1. Vyd. Woodhead Pub. Ltd. , Cambridge 2009. 420 s. ISBN 978-84569-587-3.
- [2] MARSHALL, T. R., GOFF, H. D., HARTEL, W. R. *Ice Cream*. 6. vyd. Plenum Publishers, NY 2003. 375 s. ISBN 0-306-47700-9.
- [3] CHAPINUS, C., MICHON, C. et al. Properties of Sheared Carrageenan/Milk Gels. Effect of the Presence of Nu Precursors in Iota Carrageenan. *Gums and Stabilizers for the Food Industry 12*. 294 vyd., The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2004, str. 131 – 138. ISBN 0-854004-891-X.
- [4] STŘELCOVÁ O., JANDÁSEK J., BITTNER J. et al: Přídavné látky v masných výrobcích. *Maso*. Vyd. 6, 2008, str. 51 – 54. ISBN 1210-4086.
- [5] DICKINSON, E., VAN VLIET, T. *Food Colloids, Biopolymers and Materials*. 284 vyd. The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2003. 416 s. ISBN 0-85404-871-5.
- [6] Nařízení ES č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, v platném znění. [on line]. [cit. 2013-3-21] Dostupné na:  
<<http://www.foodnet.cz/slozka/?jmeno=Konsolidovan%C3%A9+zn%C4%9Bn%C3%AD+na%C5%99%C3%ADzen%C3%AD+k+p%C5%99%C3%ADdatn%C3%BDm+l%C3%A1tk%C3%A1m&id=1154> >
- [7] CHANVRIER, H., DURAND, S. et al. Gelation Behaviour and Rheological Properties of  $\kappa/\iota$  Hybrid Carrageenans. *Gums and Stabilizers for the Food Industry 12*. 294 vyd., The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2004, str. 139 – 144. ISBN 0-854004-891-X.
- [8] DELGADO, F. J., CRESPO, J. G., CAVA, R., PARRA, J. G., RAMÍREZ, R. Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile a Spanish soft cheese P. D. O. Torta del Casar during ripening. *Food Chemistry*. 2010. Vol. 118, No. 1. s. 182 - 189. ISSN 0308-8146.

- [9] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants*. World Health Organization, USA 2007, 471 s. ISBN 978-92-4-166059-4.
- [10] PIPEK, P. *Technologie masa II*. 1. vyd. Karmelitánské nakladatelství v Kostelním Vydří, 1998, 360 s. ISBN 80-7192-283-8.
- [11] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ J.: *Chemie potravin I*. 3. vyd. OSSIS, Tábor 2009. 602 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [12] SURBURG, H., PANTEN J. *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses*, 5. přepracované vydání. Wiley-VCH, Weinheim 2006. 318 s. ISBN 978-3-527-60789-1.
- [13] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Nakl. Pavel Klouda, Ostrava, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [14] WHISTLER R.L., BeMILLER J.N., *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivates*. 3.Vyd. Academic Press, Inc., 1993.
- [15] KÖNIG, W. A., HOCHMUTH, D. H., Enantioselective Gas Chromatography in Flavor and Frangrance Analysis: Strategie fot the Identification of Known and Unknovn Plant Volatiles. *Journal of Chromatographic Science*, 2004, Vol. 42, str. 423 – 439. ISSN 1945-239X.
- [16] HÁLKOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M., RIEGLOVÁ, J. *Analýza potravin*. 2. vyd. Straka, Újezd u Brna 2001. 94 s. ISBN 80-86494-02-0.
- [17] TARTÉ, R. *Ingredients in meat products: Properties, Functionality and Applications*. 1.Vyd. Springer Science and Business Media LLC, USA 2009, 419 s. ISBN 978-0-387-71326-7.
- [18] SCHRIPSEMA J. Application of NMR in plant metabolomics: techniques, problems and prospects. *Phytochemical Analysis*. Vol. 21, No. 1, 2010, str. 14–21. ISSN 1099-1565.
- [19] OPEKAR F., JELÍNEK I. a kol. *Základní analytická chemie*. 1. vyd., Nakladatelství Karolinum, Praha 2002. 202 s. ISBN 80-246-0553-8.

- [20] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Compendium of Food Additive Specifications*. FAO, USA 2007, 73 s. ISBN 978-92-5-105866-4.
- [21] SOMMER, L. a kol. *Základy analytické chemie II*. VUTIUM, Brno, 2000, 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [22] MOTYKA, K., HLAVÁČ, J. *Stručný přehled separačních metod*. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2009, 49 s. ISBN 978-80-244-2304-3.
- [23] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin II*. 3. vyd. OSSIS, Tábor 2009. 644 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [24] BUDIG, J., MATHAUSER, P. *Technicko-technologické aspekty výroby mělněných masných výrobků v minulosti a v současnosti*. Maso, 2007 [online]. [cit. 2013-3-21] Dostupné na: <<http://www.dera.cz/cz/documents/14>> ISBN 1210-4086.
- [25] VERBEKEN D., NEIRINCK N., DEWENTINCK K., et al: Influence of  $\kappa$ -carrageenan on the thermal gelation of salt-soluble meat proteins. *Meat science*. Vol. 70, No. 1, 2005, str. 161 – 166. ISSN 0309-1740
- [26] CURIONI, P. M. G., BOSSET, J. O. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*. 2002. Vol. 12, No. 12. s. 959 - 984. ISSN 0958-6946.
- [27] SHCHIPUNOV, Y. A., CHESNOKOV, A. V. Carrageenan Gels in Skim Milk: Formation and Rheological Properties. *Colloid Journal*, No. 1, 2003. str. 105–113. ISSN 1608-3067.
- [28] RIBEIRO, K. O., RODRIQUES, M. I., SABADINI, E., CUNHA, R. L. Mechanical properties of acid podium caseinate- -carrageenan gels: effect of co-solute addition. *Food Hydrocolloids*, Vol. 18, 2004. str. 71–79. ISSN 1873-7137.
- [29] SINGH, H., TAMEHANA, M., HEMAR Y., MUNRO, P. A. Interfacial compositions, microstructures and properties of oil-in-water emulsions formed with mixtures of milk proteins and  $\kappa$ -carrageenan: 1. Sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, Vol. 17, 2003. Str. 539–548. ISSN 1873-7137.

- [30] TZIBOULA, A., HORNE, D. S. Influence of whey protein denaturation on  $\kappa$ -carrageenan gelation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Vol. 1999. Str. 299–308. ISSN 0927-776.
- [31] LANGENDORFF, V., CUVELIER, G., MICHON, C., LAUNAY, B., PARKER, A., DE KRUIF, C. G. Effects of carrageenan type on the behaviour of carrageenan/milk mixtures. *Food Hydrocolloids*, Vol. 14, 2000. str. 273 – 280. ISSN 1873-7137.
- [32] YUGUCHI, Y., URAKAWA, H., KAJIWARA, K. Structural characteristics of carrageenan gels: various type of counter ions. *Food Hydrocolloids*. Vol. 17, 2003. str. 481-485. ISSN 1873-7137.
- [33] PATROVSKÝ, J. (ed). Aplikace potravinářských přísad v zakysaných mléčných výrobcích a mléčných dezertech. *Sborník přednášek odborné konference II. ročník: Kroměřížské Mlékařské dny*. Max Portman s.r.o, Kroměříž 2006, str. 13 – 14.
- [34] STRATIL, P. *Vonné látky v potravinách*. MENDELU Brno.[online]. [cit. 2013-3-18]. Dostupné na:  
<[http://share.centrax.cz/CPO-9-10\\_Vonne\\_latky\\_v\\_potravinach\\_str\\_255-287.pdf](http://share.centrax.cz/CPO-9-10_Vonne_latky_v_potravinach_str_255-287.pdf)>
- [35] MOKREJŠ, P., LANGMAIER, F. *Aplikace přírodních polymerů*. 1.vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Zlín 2008. ISBN 978-80-7318-674-6.
- [36] IMESON, A. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agent*. John Wiley and Sons, USA 2009, ISBN 1405132671.
- [37] TYKVAROVÁ, D. a kol. Výběr hydrokoloidů pro stabilizaci jakosti terminovaných smetanových sýrů. *Potravinářská revue*. AGRAL s. r. o. Praha 2009, ISSN 1801-9102
- [38] BUŇKA, F., BUŇKOVÁ, L., KRÁČMAR, S. *Základní principy výroby tavených sýrů*, 1. Vyd.; Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně: Brno, 2009. ISBN 978-80-7375-336-8.
- [39] KINCLOVÁ, V., JAROŠOVÁ, A., TREMLOVÁ, B. Sensorická analýza potravin. *Veterinářství*. č. 54, 2004, str. 362 – 364.
- [40] HVÍZDALOVÁ, I. *Potravní doplňky a látky přídatné v německých masných výrobcích*. Vydáno 19. 6. 2006 [online]. [cit.2013-3-21] Dostupné na:



- <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=48451&ids=421>>
- [41] ČSN ISO 8586-1 Senzorická analýza – Obecná směrnice pro výběr, výcvik a sledování činnosti posuzovatelů – Část 1: Vybraní posuzovatelé. 2002.
- [42] ČSN ISO 8589 (560036). *Senzorická analýza – Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště*. Český normalizační institut. Praha. 2008. 19 s.
- [43] Nařízení ES č. 1334/2008 o aromatech a některých složkách potravin s aromatickými vlastnostmi pro použití v potravinách nebo na jejich povrchu, v platném znění. [online]. [cit. 2013-3-25] Dostupné na:  
<<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2008R1334:20090120:CS:PDF>>
- [44] GRAB, W. Challenges in Analyzing Difficult Flavors. *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., NY 2003, str. 267–275. ISBN 0-8247-4703-8.
- [45] EBELER, E., S. Sensory analysis and Analytical Flavor Chemistry: Missing Links. *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., NY 2003, str. 41. ISBN 0-8247-4703-8.
- [46] WEEL, K. G. C., BOELRIJK, A., E., M. et al. Effect of texture Perception on the Sensory Assessment of Flavor Intensity. *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., NY 2003, str. 105-118. ISBN 0-8247-4703-8.
- [47] HALPERN, P., B. When Are Oral Cavity Odorants Available for Retronasal Olfaction? *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., NY 2003, str. 51 - 63. ISBN 0-8247-4703-8.
- [48] THOMAS-DANGUIN, T., ROUBY C., Et all. Sensory Analysis and Olfactory Perception: Some Sources of Variation. *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., NY 2003, str. 65-81. ISBN 0-8247-4703-8.
- [49] ROBERTS, D. D., POLLIEN, P. et all. Nosespace Analysis with Proton-Transfer Reaction Mass Spectrometry: Intra- and Interpersonal Variability. *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., NY 2003, str. 151-162. ISBN 0-8247-4703-8.

- [50] FABRE, M., GUICHARD, E. et al. Correlation Between Sensory Time-Intensity and Solid-Phase Microextraction Analysis of Fruity Flavor in Model FOOD Emulsions. *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., NY 2003, s. 163-175. ISBN 0-8247-4703-8.
- [51] DEIBLER, K. D., DELWICHE, J. *Handbook of Flavor Characterization*. Marcel Dekker, Inc., 2003, 493 s. ISBN 0-8247-4703-8.
- [52] LOZANO, P. R. et al. Instrumental and sensory characterization of heat-induced odorants in aseptically packaged souy milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 55, No. 8, 2007, str. 3018 – 3026. ISSN 1520-5118.
- [53] BUŇKA, F. a kol. Vybrané hydrokoloidy a emulgátory ve výrobě tavených sýrů. *Acta fytotechnica et zootechnica*. Nitra 2009, str. 69 – 78. ISSN 1336-9245.
- [54] PĚNČÍKOVÁ H. *Analytická chemie a chemická laboratorní cvičení*. Dotisk, Střední průmyslová škola chemická, Brno 2003, 200 s.
- [55] ČSN ISO 5492 Senzorická analýza – Slovník. 1999.
- [56] JAROŠOVÁ, A. *Senzorické hodnocení potravin*. Dotisk. MZLU, Brno 2007, 86 s. ISBN 978-80-7157-539-9.
- [57] INGR, I., POKORNÝ, J., VALENTOVÁ, H. *Senzorická analýza potravin*. MZLU, Brno 2007, 101 s. ISBN 978-80-7375-032-9.
- [58] KUBÁŇ, V., KUBÁŇ, P., *Analýza potravin*. MZLU, Brno, 2007, 203 s. ISBN 978-80-7375-036-7
- [59] KOPEC, K. *Kvalitologie potravin část I.*, Lednice na Moravě 2007, 104 s.
- [60] BUŇKA, F., HRABĚ, J., VOSPĚL, B. *Senzorická analýza potravin I*. 2. vyd. UTB, Zlín 2010, 157 s. ISBN 978-80-7318-887-0.
- [61] HÁLKOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M., RIEGLOVÁ, J.: *Analýza potravin*. 2. vyd. Ivan Straka, Újezd u Brna 2001. 94 s. ISBN 80-86494-02-0.
- [62] De VRIES, J. Hydrocolloid gelling agents and their applications. *Gums and Stabilizers for the Food Industry 12*. 294 vyd., The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2004, str. 23-31. ISBN 0-854004-891-X.

- [63] VAN RUTH, S. M. Aroma measurement: Recent developments in isolation and characterisation. *Physics and Chemistry Basis of Biotechnology*. Vol. 7, 2002. str. 305-328. ISSN 1569-268X.
- [64] MAJCHER, M., JELEŇ, H. H.: Comparison of suitability of SPME, SAFE and SDE methods for isolation of flavor compounds from extruded potato snacks. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 22, No. 6, 2009. str. 606-612. ISSN 0889-1575.
- [65] ŠVEC, F. Co dnes hýbe kapalinovou chromatografií? *Chemické Listy* č. 103, 2009. str. 266–270. ISSN 1213-7103.
- [66] STOKER, H. S., *General, Organic and Biological Chemistry*. 5. Vyd. Brooks/Cole 2010, 57 s. ISBN 0547152817.
- [67] KIM, H. K., VERPOORTE R. Sample Preparation for Plant Metabolomics, *Phytochemical Analysis*. Vol. 21, No. 1, 2010, str. 4 – 14. ISSN 1099-1565.
- [68] SALOMA, C. A., ADLAN, S. A, PADILLA, G. P. *Selected Essay on Science and Technology for Securing a Better Philippines*. The University of the Philippines Press 2008. 499 s. ISBN 978-971-542-592-6.
- [69] STEPHEN, A., PHILLIPS, G., WILLIAMS, P. *Food polysaccharides and their applications*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton 2006. 712 s. ISBN 978-0-8247-5922-3.
- [70] GROB, L. R., BARRY, F. E. *Modern practice of Gas Chromatography*. 4. Vyd. John Wiley and Sons, USA 2004, 1045 s. ISBN 0-471-22983-0.
- [71] McNAIR, M. H., MILLER, M. J. *Basic Gas Chromatography*. 2. vyd., John Wiley and Sons, USA 2009. ISBN 978-0-470-43954-8.
- [72] LAWLESS, T. H., HEYMANN, H. *Sensory Evaluation of Food*. 2. vyd. Springer Science and Business Media, LLC, NY 2010. 596 s. ISBN 978-1-4419-6488-5.
- [73] CLARK, S. et all. *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. 2. vyd., Springer Science and Business Media, LLC. NY 2009. 573 s. ISBN 978-0-387-77408-4.
- [74] KEMP, E. S., HOLLOWOOD, T., HORT, J. *Sensory Evaluation – A Practical Handbook*. 1. vyd., Blackwell Publishing, Oxford 2009. s. ISBN 978-1-4051-6210-4.

- [75] BACLÍKOVÁ, B., PAULUSOVÁ, H. *Vliv silic a jejich hlavních účinných látek na mikroorganismy a na archivní materiál*. Národní archiv Praha 2012 [online]. [cit. 2013-3-31] Dostupné na: <<http://www.nacr.cz/Z-files/silice/silice.pdf>>
- [76] KOKATE, C. K., PUROHIT, A. P., GOKHALE, S. B. *Pharmacognosy*. Nirali Prakashan 2008. 92 s. ISBN 978-81-96396-15-2.
- [77] NOLLET, L. M. L. Et all. *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality*. 2. vyd., Wiley- Blackwell, Oxford 2012. 576 s. ISBN 978-0-470-95832-2.
- [78] RONALD, S. R. *Wine Science, Principles and Applications*. 3. vyd., Elsevier 2008. 769 s. ISBN 978-0-12-373646-8.
- [79] POKORNÝ, J. *Metody senzorické analýzy potravin a stanovení senzorické jakosti*. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 1993, 196 s. ISBN 80-85120-34-8
- [80] Přehled a specifikace kolon Agilent Technologies [online]. [cit.2013-3-21] Dostupné na: <[http://www.labicom.cz/administrace/ckfinder/userfiles/files/Agilent\\_GC\\_kolony\\_tab.pdf](http://www.labicom.cz/administrace/ckfinder/userfiles/files/Agilent_GC_kolony_tab.pdf)>
- [81] VAZQUEZ-LANDAVERDE et all. *Quantitative Determination of thermally Derived Off-flavor Compounds in Milk Using Solid-Phase Microextracion and Gas Chromatography*. Department of Food Science and Technology. [on-line]. [2013-4-13] Dostupné na: <<http://www.aseanfood.info/Articles/11020184.pdf>>
- [82] HUY, Y. H. At all. *Food Product Manufacturing*. 2. vyd., John Wiley and Sons, Inc NY 2007. ISBN 978-0-470-12525-0.
- [83] HUY, Y. H. At all. *Hanbook of Fruit and Vegetable Flavors*. 1. vyd., John Wiley and Sons 2010. ISBN 978-0470-2272-3.
- [84] SAPERS, G. M., SULLIVAN, J. F., TALLEY, F. B. Flavor Quality in Explosion Puffed Dehydrated Potato – A Gas Chromatographic Method for the Determination of Aldehydes Associated with Flavor Quality. *Journal od Food Science*. Vol. 35, No. 6, 2006, str. 728-730. ISSN 1750-3841.
- [85] KALUA, C. M. Et al. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*. Vol. 100, 2007, str. 273 – 286. ISSN 0308-8146.

- [86] MARIN, K. Et al. New Aroma Index for Aroma Quality of Coffee During Storage. *Food Technology and Biotechnology*. Vol. 46, No. 4, 2008, str. 442 – 447. ISSN 1334-2606.
- [87] LASEKAN, O. Effect of processing and flavour fine-tuning techniques on the volatile flavour constituents of pseudocereals and some minor cereals. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. Vol. 10, No. 2, 2012, str. 73 – 79. ISSN 1459-0263.
- [88] SCHIRACK, A. V. Et al. Characterization of Aroma-Active Compounds in Microwave Blanched Peanuts. *Journal of Food Science*. Vol. 71, No. 9, 2006. ISSN 1750-3841.
- [89] HÜBSCHMANN, H. J. *Handbook of GC/MS*. 2. vyd., Willey-VCH, Weinheim 2009. 719 s. ISBN 978-3-527-3142-0.
- [90] LAOHAPRASIT, N. KUKREJA, R. K., ARUNRAT, A. Extraction of volatile compounds from 'Nam Dok Mai' and 'Maha Chanok' mangoes. *International Food Research Journal*. Vol. 19, No. 4, 2012, str. 1445-1448. ISSN 22317546.
- [91] JAFFRES, E. Et al. Sensory Characteristics of Spoilage and Volatile Compounds Associated with Bacteria Isolated from Cooked and Peeled Tropical Shrimps using SPME-GC-MS analysis. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 147, No. 3, 2011, str. 195 – 202. ISSN 0168-1605.
- [92] MOHAMAD, H. N. Et al. Tentative Identification of Volatile Flavor Compounds in Commercial Budu, a Malaysian Fish Sauce, Using GC-MS. *Molecules*. Vol. 17, 2012, str. 5062-5080. ISSN 1420-3049.
- [93] HETTING, K. A. *Quality control of raw cows' milk by headspace analysis, a new approach to mastitis diagnosis*. Wageningen University, 2009, 128 s. ISBN 978-90-9585-300-8.
- [94] SILVA, M. C. Et al. Volatile compounds in salted dried codfishes from different species. *Acta Alimentaria*. Vol. 41, No. 3, 2012, str. 375 – 388. ISSN 1588-2535.
- [95] ÓLAFSDÓTTIR, G. Et al. Characterization of volatile compounds in chilled codfish (*Gadus morhua*) fillets by gas chromatography and detection of quality indicators by an electronic nose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 53, 2005. str. 10140-10147. ISSN 1520-5118.

- [96] PERPÉTE, P., COLLIN, S. Contribution of 3-Methylthiopropionaldehyde to the Warty Flavor of Alcohol-Free Beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 47, 1999, s. 2374-2378. ISSN 0021-8561.
- [97] Bezpečnostní list Sigma Aldrich [online]. [cit. 2013-3-21] Dostupné na:  
<[http://www.fch.vutbr.cz/ictep/studijni\\_materialy/Prakt\\_OCH/MSDS/isobutyraldehyd.pdf](http://www.fch.vutbr.cz/ictep/studijni_materialy/Prakt_OCH/MSDS/isobutyraldehyd.pdf)>
- [98] Integrovaný registr znečišťování [online]. [cit. 2013-3-21] Dostupné na:  
<<http://www.irz.cz/repository/latky/trichlormethan.pdf>>
- [99] Bezpečnostní list Isovaleraldehydu [online]. [cit. 2013-3-21] Dostupné na:  
<<http://datasheets.scbt.com/sc-250204.pdf>>
- [100] Bezpečnostní list OXEA [online]. [cit. 2013-3-21] Dostupné na:  
<<http://www.oxeachemicals.com/download/werces/MTA3OTAjZW4jcHMjYXVzIzEyOTYyMTc1NDYwMDAjb3hlYSMxIOQ=/10790-en-ps-us.pdf>>
- [101] Bezpečnostní list Parchem [online]. [cit. 2013-3-21] Dostupné na:  
<[www.parchem.com](http://www.parchem.com)>
- [102] LI, X., YU, B., CURRAN, P., LIU, S. Q. Chemical and Volatile Composition of Mango Wines Fermented with Different *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains. *South African Journal for Enology and Viticulture*. Vol. 32, No. 1, 2011. str. 117 – 128. ISSN 0253-939X
- [103] ČSN EN ISO 4120 (560032) Senzorická analýza - Metodologie - Trojúhelníková zkouška

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AAL	Aromaticky aktivní látky.
AED	Atomový emisní detektor.
AFID	Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem
ECD	Detektor elektronového záchytu.
FID	Plamenový ionizační detektor.
GC	Gas Chromatography.
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectometry.
GC/O	Gas Chromatography/Olfactometry.
GLC	Gas – Liquid Chromatography.
GSC	Gas – Solid Chromatography.
HS-GC/MS	Headspace Gas Chromatography/Mass Spectometry.
ISO	International Organization for Standardization.
MS	Hmotnostní detektor.
PID	Fotoionizační detektor.
PLOT	Poroust Layer Open Tubular.
RT	Retenční čas.
SCOT	Support Coated Open Tubular.
TCD	Tepelně vodivostní detektor.
TID	Bezplamenový detektor s alkalickým kovem.
WCOT	Wall Coated Open Tubular.

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1 Chemické vzorce jednotlivých druhů karagenanů [1]	str. 13
Obr. 2 Tvorba šroubovice u $\kappa$ -karagenanu [2]	str. 15
Obr. 3 Schéma výroby karagenanů z mořských řas	str. 16
Obr. 4 Schéma plynového chromatografu [13]	str. 26
Obr. 5 Liner	str. 27
Obr. 6 Headspace dávkování vzorku [89]	str. 29
Obr. 7 Kapilární kolona	str. 30
Obr. 8 Chromatogram [54]	str. 31
Obr. 9 Přípravek č. 1 Ceamgel	str. 42
Obr. 10 Přípravek č. 2 Ricogel	str. 43
Obr. 11 Plynový chromatograf Agilent 6890N Network GC Systém	str. 45



**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1	Přehled sledovaných šarží karagenanového přípravku Ceamgel	str. 41
Tab. 2	Přehled sledovaných šarží karagenanového přípravku Ricogel	str. 43
Tab. 3	Přehled použitých šarží v šunkách pro sensorickou analýzu	str. 47
Tab. 4	Teplotní průběh analýzy vzorku	str. 48
Tab. 5	Deskriptory chuti a aroma hodnocených šarží, použitých při výrobě šunky	str. 50
Tab. 6	Výsledky sensorické analýzy vzorků drůbeží šunky	str. 51
Tab. 7	Výsledky sensorické analýzy vzorků vepřové šunky	str. 52
Tab. 8	Deskriptory chuti a aroma, použité hodnotiteli při sensorické analýze šunek	str. 54
Tab. 9	Charakteristika vonných látek podle vnímání vůně ve vybraných potravinách	str. 58
Tab. 10	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 2,20 – 2,40 min	str. 60
Tab. 11	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 2,70 – 2,80 min	str. 60
Tab. 12	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 3,10 – 3,15 min	str. 61
Tab. 13	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 3,20 – 3,35 min	str. 62
Tab. 14	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 1 pro RT 13,75 – 13,87 min	str. 63
Tab. 15	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 2,20 – 2,40 min	str. 67
Tab. 16	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 2,70 – 2,80 min	str. 68
Tab. 17	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 3,10 – 3,15 min	str. 69
Tab. 18	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 3,20 – 3,35 min	str. 69
Tab. 19	Výsledky analýzy GC/MS přípravku č. 2 pro RT 13,75 – 13,87 min	str. 70

## SEZNAM PŘÍLOH

PI: Hodnotící protokoly

PII: Tab. A 1 ČSN EN ISO 4120

PIII: Chromatogramy

## PŘÍLOHA I: HODNOTÍCÍ PROTOKOLY

### Trojúhelníková zkouška (Triangeltest)

Jméno: \_\_\_\_\_ Datum: \_\_\_\_\_  
 Name: \_\_\_\_\_ Datum: \_\_\_\_\_

**Provedení zkoušky:**

- Obdržíte tři vzorky, z nichž dva jsou stejné a jeden nikoli. Ochutnávejte vzorky ve směru odleva doprava. **Označte rozdílný vzorek** křížkem a popište, v čem je tento vzorek rozdílný od ostatních dvou shodných.
  - K neutralizaci máte k dispozici vodu. Zpětné ochutnávání vzorků **JE POVOLENO**.
- Prüfmethode: Sie erhalten drei Proben, von denen zwei identisch sind und eine abweicht. Bitte verkosten Sie von links nach rechts. Markieren Sie die abweichende Probe mit einem Kreuz und beschreiben Sie, worin der Unterschied zur Doppelprobe besteht. Bitte denken Sie daran, zwischen den Proben zu neutralisieren. Rückkosten ist erlaubt.*

**Zakřížkujte vzorek, který je rozdílný od ostatních dvou:**

*Bitte kreuzen Sie an welche Probe abweichend ist.*

	Kód vzorku 033 (Code)	Kód vzorku 757 (Code)	Kód vzorku 0139 (Code)
rozdílný vzorek (abweichende Probe)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

**Popište, v čem je vzorek rozdílný od ostatních dvou:**

*Beschreibung der Abweichung:*

SILNĚJŠÍ CHEMICKÁ CHUŤ

### Trojúhelníková zkouška (Triangeltest)

Jméno: \_\_\_\_\_ Datum: 31.5.  
 Name: \_\_\_\_\_ Datum: \_\_\_\_\_

**Provedení zkoušky:**

- Obdržíte tři vzorky, z nichž dva jsou stejné a jeden nikoli. Ochutnávejte vzorky ve směru odleva doprava. **Označte rozdílný vzorek** křížkem a popište, v čem je tento vzorek rozdílný od ostatních dvou shodných.
  - K neutralizaci máte k dispozici vodu. Zpětné ochutnávání vzorků **JE POVOLENO**.
- Prüfmethode: Sie erhalten drei Proben, von denen zwei identisch sind und eine abweicht. Bitte verkosten Sie von links nach rechts. Markieren Sie die abweichende Probe mit einem Kreuz und beschreiben Sie, worin der Unterschied zur Doppelprobe besteht. Bitte denken Sie daran, zwischen den Proben zu neutralisieren. Rückkosten ist erlaubt.*

**Zakřížkujte vzorek, který je rozdílný od ostatních dvou:**

*Bitte kreuzen Sie an welche Probe abweichend ist.*

	Kód vzorku 139 (Code)	Kód vzorku 757 (Code)	Kód vzorku 033 (Code)
rozdílný vzorek (abweichende Probe)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

**Popište, v čem je vzorek rozdílný od ostatních dvou:**

*Beschreibung der Abweichung:*

Má sladší, měkčí chuť



## PŘÍLOHA II: TAB. A. 1 ČSN EN ISO 4120 [103]

A.1 Hodnoty v tabulce A.1 jsou minimální hodnoty správných odpovědí požadovaných pro spolehlivost na hladině rizika  $\alpha$  (tj. sloupce) pro odpovídající počet posuzovatelů  $n$  (tj. řady). Zamítá se předpoklad „bez rozdílu“, pokud počet správných odpovědí je větší nebo roven hodnotě v tabulce A.1.

Tabulka A.1 – Minimální počet správných odpovědí požadovaných pro závěr, že existují vnímatelné rozdíly na základě trojúhelníkové zkoušky

$n$	$\alpha$					$n$	$\alpha$				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001		0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
6	4	5	5	6	–	27	12	13	14	16	18
7	4	5	5	6	7	28	12	14	15	16	18
8	5	5	6	7	8	29	13	14	15	17	19
9	5	6	6	7	8	30	13	14	15	17	19
10	6	6	7	8	9	31	14	15	16	18	20
11	6	7	7	8	10	32	14	15	16	18	20
12	6	7	8	9	10	33	14	15	17	18	21
13	7	8	8	9	11	34	15	16	17	19	21
14	7	8	9	10	11	35	15	16	17	19	22
15	8	8	9	10	12	36	15	17	18	20	22
16	8	9	9	11	12	42	18	19	20	22	25
17	8	9	10	11	13	48	20	21	22	25	27
18	9	10	10	12	13	54	22	23	25	27	30
19	9	10	11	12	14	60	24	26	27	30	33
20	9	10	11	13	14	66	26	28	29	32	35
21	10	11	12	13	15	72	28	30	32	34	38
22	10	11	12	14	15	78	30	32	34	37	40
23	11	12	12	14	16	84	33	35	36	39	43
24	11	12	13	15	16	90	35	37	38	42	45
25	11	12	13	15	17	96	37	39	41	44	48
26	12	13	14	15	17	102	39	41	43	46	50

POZNÁMKA 1 Hodnoty v tabulce jsou přesné, protože jsou na základě binomického rozdělení. Pro hodnoty  $n$ , které nejsou zahrnuty v tabulce, se vypočítají přibližné hodnoty pro chybějící na základě normální aproximace k binomické následovně: Minimální číslo odpovědí ( $x$ ) rovné nejbližšímu celému číslu většímu než

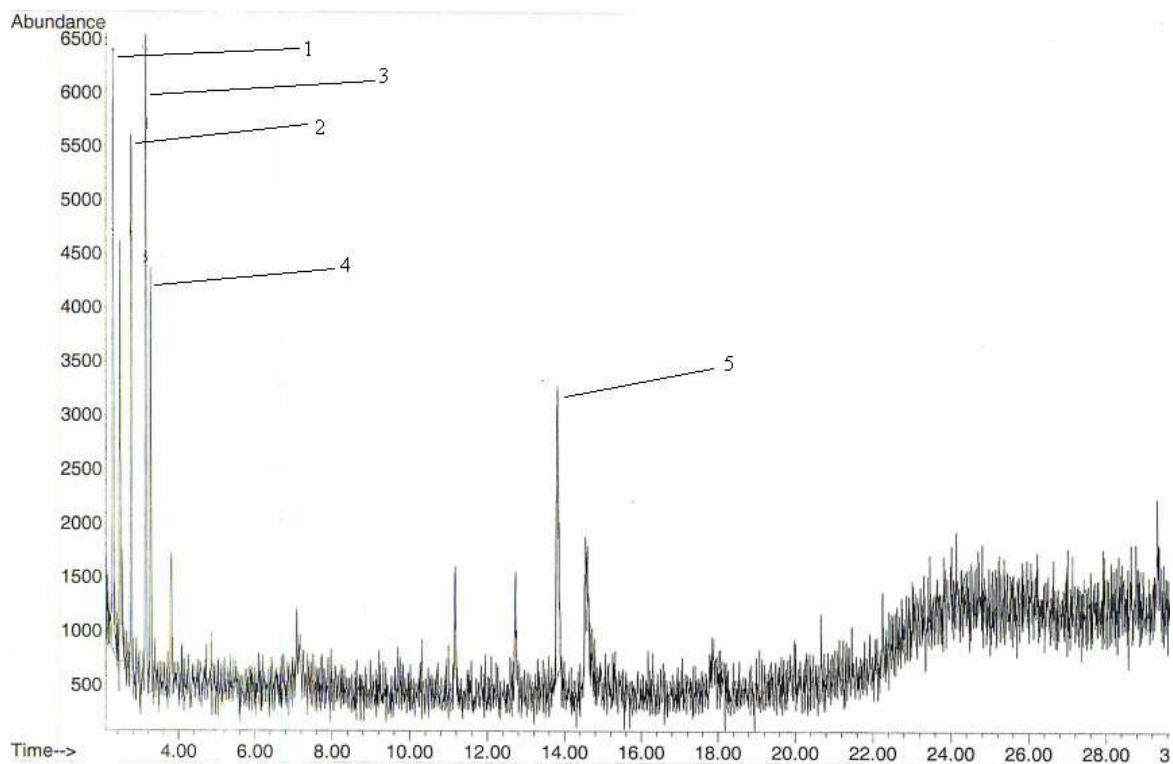
$$x = (n/3) + z\sqrt{2n/9}$$

kde  $z$  se mění jako funkce hladiny pravděpodobnosti: 0,84 pro  $\alpha = 0,20$ ; 1,28 pro  $\alpha = 0,10$ ; 1,64 pro  $\alpha = 0,05$ ; 2,33 pro  $\alpha = 0,01$ ; 3,09 pro  $\alpha = 0,001$ .

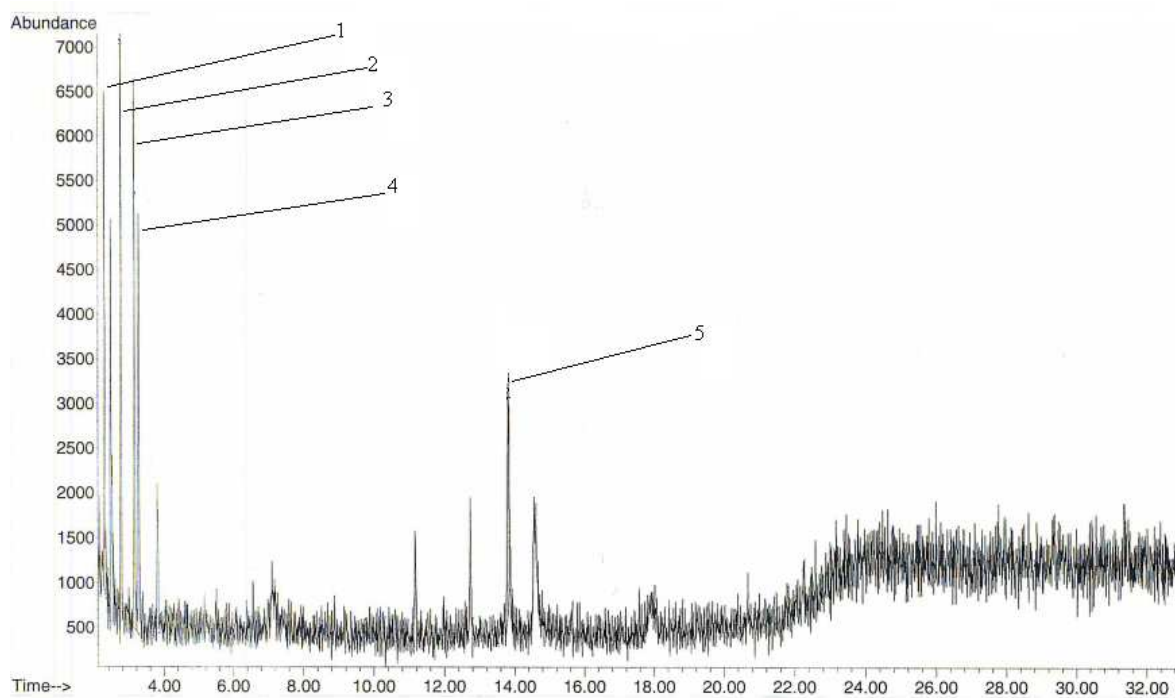
POZNÁMKA 2 Hodnoty pro  $n < 18$  nejsou obvykle doporučovány pro trojúhelníkovou rozdílovou zkoušku.

## PŘÍLOHA III: CHROMATOGRAMY

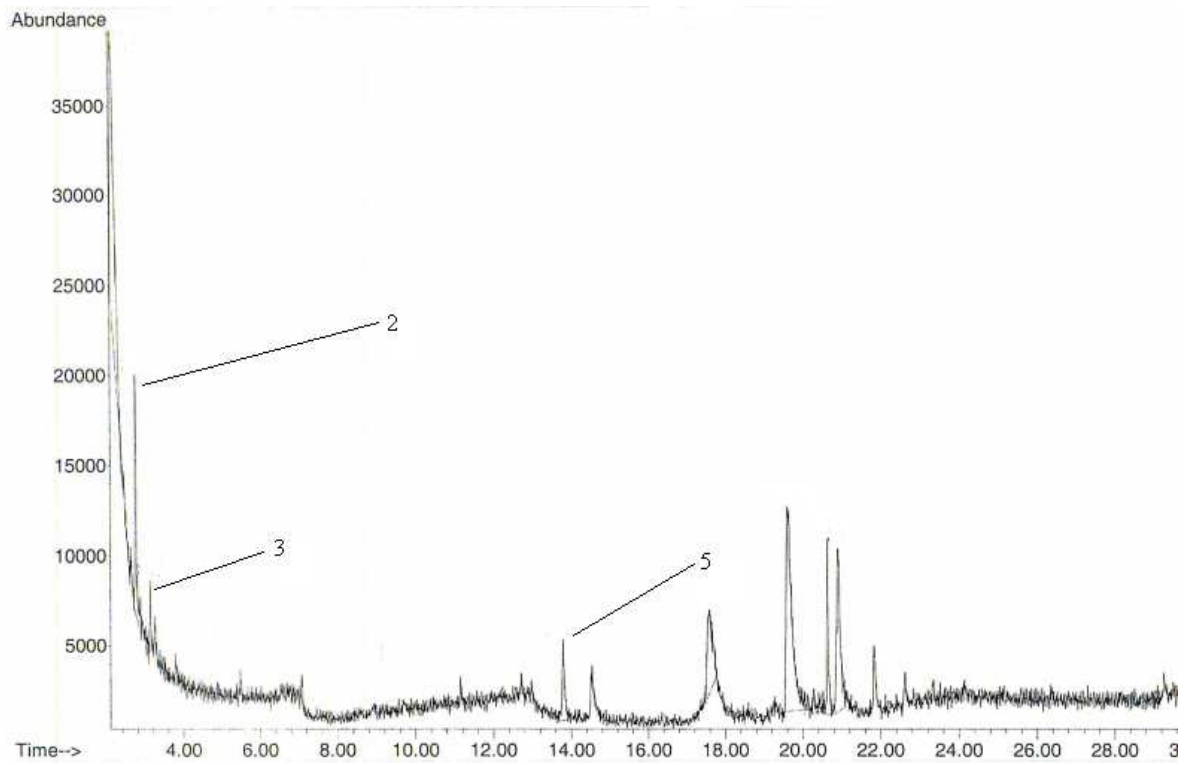
Chromatogram vzorku C1:



Chromatogram vzorku C2:



Chromatogram R1:



Chromatogram R3:

