

# Stanovení obsahu methanolu v ovocném destilátu

Jana Veselá

---

Bakalářská práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jana VESELÁ**  
Osobní číslo: **T10083**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení obsahu methanolu v ovocném destilátu**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakteristika methanolu.
2. Proces výroby ovocných destilátů.
3. Chemické složení destilátů.
4. Principy a metody stanovení methanolu.

### II. Praktická část

1. Analýza reálných vzorků destilátů s obsahem methanolu.
2. Vyhodnocení naměřených výsledků stanovení methanolu v ovocném destilátu.
3. Diskuse získaných výsledků a formulace závěrů práce.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Vyd. 2. uprav. Tábor: OSSIS, 2002, 304 s. ISBN 8086659011.

[2] RUSU COLDEA, Teodora Emilia; SOCACIU, Carmen; PARV, Maria; VODNAR, Dan. *Gas-Chromatographic Analysis of Major Volatile Compounds Found in Traditional Fruit Brandies from Transylvania, Romania*. *Not Bot Horti Agrobo*, 2011. 39(2):109–116.

[3] WINTEROVÁ, Renata; MIKULÍKOVÁ, Renata; MAZÁČ, Jiří; HAVELEC, Pavel. *Assessment of the Authenticity of Fruit Spirits by Gas Chromatography and Stable Isotope Ratio Analyses*. *Czech J. Food Sci.* 2007, 5: 368–375.

[4] WANG, Mei-Ling; WANG, Jih-Terng; CHOONG, Youk-Meng. *A Rapid and Accurate Method for Determination of Methanol in Alcoholic Beverage by Direct Injection Capillary Gas Chromatography*. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2004, 17:187–196.

[5] DYR, Josef; DYR, Jan E. *Výroba slivovice a jiných pálenek*. Očenášková. 4. dopl. vyd. Praha 4: MAXDORF, 1997. 219 s. ISBN 80-85800-80-2.

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.**  
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

**16. ledna 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013

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



  
doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: *Kesela' Jama*

Obor: *CKTP*

## 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 *13.5.2013*

*Kesela' Jama*

---

<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:

(1) Vysoká škola nevýdělečně 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.

(2) 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.

(3) 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:

(3) 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 užít 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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Bakalářská práce je zaměřena na methanol v jablečných destilátech. V teoretické části je pojednáno o vlastnostech methanolu, jeho tvorbě, využití, výskytu, metabolismu a účincích v lidském těle, dále o legislativě v oblasti lihovin, ovoci pro výrobu destilátů, alkoholovém kvašení, destilaci, chemickém složení destilátů, vadách destilátů a metodách ke stanovení methanolu. V praktické části byly stanoveny koncentrace methanolu v jablečných destilátech. Analýza těchto destilátů byla provedena plynovou chromatografií s plamenovým ionizačním detektorem (GC/FID).

Klíčová slova: methanol, ovocný destilát, destilace, plynová chromatografie

## **ABSTRACT**

Bachelor's thesis is focused on methanol in Apple spirits. The theoretical part is dealt with the properties of methanol, its creation, usage, distribution, metabolism and effects in the human body, also on legislation in the area of spirit drinks, fruit for the production of spirits, alcoholic fermentation, distillation, chemical composition of spirits, quality defects of the spirits and the methods for the determination of methanol. In the practical part of the methanol concentrations were determined in the Apple spirits. Analysis of these spirits were performed by gas chromatography with a flame ionization detector (GC/FID).

Keywords: methanol, fruit spirit, distillation, gas chromatography

Tímto bych chtěla poděkovat doc. Ing. Miroslavu Fišerovi, CSc., za cenné rady, podněty a připomínky při zpracování této bakalářské práce. Poděkování patří také Ing. Josefu Osíčkovi, který mně věnoval čas při provedení praktické části této práce.

*Motto: Dlouhá je cesta přes pravidla, krátká a vydatná přes příklady*

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>1 TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 METHANOL</b> .....	<b>12</b>
1.1 HISTORICKÁ POZNÁMKA.....	12
1.2 ZÁKLADNÍ FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ VLASTNOSTI METHANOLU.....	12
1.3 SYNTETICKÁ A PŘÍRODNÍ TVORBA METHANOLU.....	13
1.4 VYUŽITÍ METHANOLU .....	14
1.5 VÝSKYT A OBSAH METHANOLU .....	14
1.6 METABOLISMUS METHANOLU V LIDSKÉM TĚLE .....	14
1.6.1 Antidota.....	16
1.6.2 Terapie.....	17
<b>2 HISTORIE VÝROBY DESTILÁTŮ</b> .....	<b>18</b>
<b>3 LEGISLATIVA V OBLASTI LIHOVIN A LIMITNÍHO MNOŽSTVÍ METHANOLU V DESTILÁTECH</b> .....	<b>20</b>
3.1 LEGISLATIVA V OBLASTI LIHOVIN .....	20
3.2 MAXIMÁLNÍ PŘÍPUSTNÁ MNOŽSTVÍ METHANOLU.....	22
<b>4 OVOCE PRO VÝROBU DESTILÁTŮ</b> .....	<b>23</b>
4.1 DRUHY DESTILOVANÉHO OVOCE .....	23
4.1.1 Jádrové ovoce.....	23
4.1.2 Peckové ovoce.....	24
4.1.3 Drobné ovoce (bobulové ovoce) .....	26
4.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ OVOCE .....	27
4.3 PŘÍPRAVA OVOCE PRO KVAS.....	32
<b>5 ALKOHOLOVÉ KVAŠENÍ</b> .....	<b>34</b>
5.1 FÁZE ETHANOLOVÉ GLYKOLÝZY .....	34
5.2 MIKROORGANIZMY DOPROVÁZEJÍCÍ KVAŠENÍ .....	36
5.2.1 Kvasinky.....	36
5.2.2 Bakterie .....	38
5.2.3 Plísně.....	39
<b>6 DESTILACE</b> .....	<b>40</b>
6.1 DESTILAČNÍ ZAŘÍZENÍ.....	41
6.2 DESTILACE KVASU A REKTIFIKACE .....	43
6.2.1 Destilace kvasu (první destilace).....	43
6.2.2 Rektifikace – přepalování (druhá destilace).....	43
6.3 FRAKCE DESTILACE .....	44
<b>7 CHEMICKÉ SLOŽENÍ DESTILÁTŮ</b> .....	<b>45</b>



7.1	SLOUČENINY OVLIVŇUJÍCÍ CHARAKTER DESTILÁTŮ .....	45
<b>8</b>	<b>VADY DESTILÁTŮ .....</b>	<b>48</b>
8.1	PŘÍČINY VĚTŠINY VAD DESTILÁTŮ .....	48
8.2	TYPY VAD DESTILÁTŮ A MOŽNOSTI JEJICH ODSTRANĚNÍ .....	48
<b>9</b>	<b>METODY STANOVENÍ METHANOLU.....</b>	<b>50</b>
9.1	CHROMATOGRAFIE .....	50
9.1.1	Plynová chromatografie (GC) .....	50
9.1.1.1	Popis zařízení plynového chromatografu.....	50
9.1.2	Kapalinová chromatografie (LC) .....	55
9.1.2.1	Popis zařízení kapalinového chromatografu.....	55
9.1.3	Cyklická voltametrie (CV) .....	57
<b>10</b>	<b>CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE.....</b>	<b>58</b>
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>59</b>
<b>11</b>	<b>MATERIÁL A METODA PRO STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU VE VZORCÍCH DESTILÁTŮ .....</b>	<b>60</b>
11.1	ANALÝZA METHANOLU V JABLEČNÝCH DESTILÁTECH ZA POUŽITÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE S PLAMENOVÝM IONIZAČNÍM DETEKTOREM (GC-FID).....	60
11.1.1	Materiál .....	60
11.1.2	Chemikálie .....	61
11.1.3	Laboratorní vybavení a přístroj .....	61
11.1.4	Příprava vzorků .....	63
11.1.5	Příprava kalibračních roztoků .....	63
<b>12</b>	<b>STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU V JABLEČNÝCH DESTILÁTECH .....</b>	<b>64</b>
12.1	METODA KALIBRAČNÍ KŘIVKY.....	64
12.2	DATOVÁ VYHODNOCENÍ ANALÝZY VZORKŮ .....	65
12.3	POSTUP STANOVENÍ METHANOLU .....	65
<b>13</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>66</b>
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>69</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>70</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>77</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>78</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>79</b>

## ÚVOD

Vybrané téma jsem si zvolila především z důvodu, že se chci v dalším studiu věnovat oboru analytické chemie, která má široké uplatnění ve všech oblastech lidské činnosti, počínaje ekologií, v medicíně, při zjišťování kvality a zdravotní nezávadnosti potravin, při kontrole výrobních procesů apod. Právě zpracování bakalářské práce mě uvede do prostředí analytických laboratoří, kde se seznámím i po praktické stránce s moderní analytickou technologií a vůbec poznám denní režim práce v takových úsecích laboratoří.

Bakalářská práce pojednává zejména o charakteristice stanovené látky, využití, syntetické i přírodní tvorbě a budou zahrnuty i zdravotní aspekty především z důvodu toxické povahy methanolu. Dále je práce zaměřena na proces destilace, během které vznikají produkty s různou koncentrací methanolu, což jsou nápoje určené pro lidskou konzumaci a legislativu, která se zabývá povoleným množstvím methanolu v destilátech. Na konci teoretické práce popíše možné metody pro zjištění obsahu methanolu v jablečných destilátech.

Téma je aktuální zejména z toho důvodu, že se v září roku 2012 v České republice začaly objevovat případy otravy methanolem. Do 20. března 2013 na otravu methanolem zemřelo 44 osob a desítky dalších byly hospitalizovány. Mnozí utrpěli trvalé poškození zraku.

Hlavním cílem mé bakalářské práce je analýza obsahu methanolu v jablečných destilátech získaných dvoustupňovou destilací pomocí plynového chromatografu s plamenovým ionizačním detektorem a zjištěné výsledky porovnat mezi sebou.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 METHANOL

Methanol je nejjednodušším uhlovodíkem s vázanou alkoholovou skupinou OH. Je znám také pod pojmem methylalkohol a dnes již zastaralým názvem dřevný líh. Jeho chemický vzorec je  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Jedná se o prudce jedovatou, bezbarvou, hořlavou kapalinu lihového zápachu, používanou v chemickém průmyslu a v laboratořích. Po zapálení hoří methanol ve vzduchu bledě modře, průhledným plamenem. Páry tvoří se vzduchem výbušnou směs [1, 2, 3].

### 1.1 Historická poznámka

V roce 1661 Robert Boyle připravil methanol suchou destilací dřeva. Boyleův objev methanolu upadl téměř v zapomnění a methanol byl znovu objeven počátkem 19. století Phillipem Taylorem. V roce 1834 francouzští chemikové Jean-Baptiste Dumas a Eugene Peligot určili jeho chemické složení. První vlna masových otrav methanolem proběhla ve světě hned na začátku 20. století po objevení účinného způsobu jeho purifikace v 90. letech 19. století. Nicméně o toxicitě methanolu dlouhou dobu existovaly velké pochybnosti, protože se v pokusech na laboratorních zvířatech nedařilo vyvolat symptomy otravy. Od roku 1923, po masové otravě chemicky čistým methanolem, se jeho toxicita již považovala za prokázanou. Nicméně ani tím masové otravy ve světě neskončily. Ve většině případů byl methanol záměrně přidán do lihovin s úmyslem zvýšit zisk z ilegálního prodeje [4, 5, 6, 7].

### 1.2 Základní fyzikální a chemické vlastnosti methanolu

Bod varu: 65 °C

Bod vzplanutí: 8,5 °C

Bod hoření: 11 °C

Hořlavost: Hořlavá kapalina I. třídy nebezpečnosti

Výbušnost:

- dolní mez výbušnosti 5,5 obj. %

- horní mez výbušnosti 44 obj. %

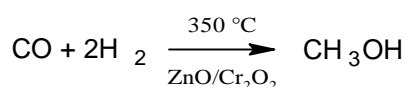
Tenze par (při 20 °C): 12,8 kPa

Hustota (při 20°C): 791 kg/m<sup>3</sup>

Rozpustnost ve vodě: Mísí se s vodou, ethanolem, acetonem [8].

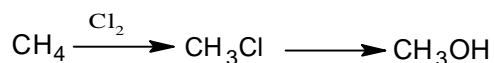
### 1.3 Syntetická a přírodní tvorba methanolu

Než se rozvinul moderní chemický průmysl, byl methanol získáván zahříváním dřeva v nepřítomnosti vzduchu a odtud pochází dnes již málo používaný termín *dřevný líh*. Methanol je jednou z nejdůležitějších průmyslových chemikálií, která se získává výhradně hydrogenací oxidu uhelnatého. Pracuje se za tlaku kolem 20 MPa a při teplotě 350 °C na katalyzátoru tvořeném oxidem zinečnatým a oxidem chromitým (Obr. 1). Dnes se ročně vyrábí katalytickou redukcí oxidu uhelnatého jenom v USA více než 5 miliónů tun methanolu [9, 10, 11].



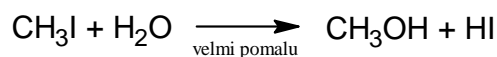
Obr. 1. Rovnice hydrogenace oxidu uhelnatého.

Chlorace methanu sledovala využití zemního plynu pro výrobu methanolu (Obr. 2).



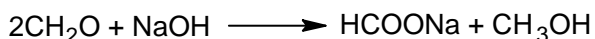
Obr. 2. Rovnice využití zemního plynu.

Do skupiny solvolytických reakcí, patří také reakce jako alkoholýza, hydrolýza, acetolýza atd. Solvolýzou rozumíme monomolekulární reakce substrátu s rozpouštědlem (Obr. 3).



Obr. 3. Rovnice solvolytické reakce [10].

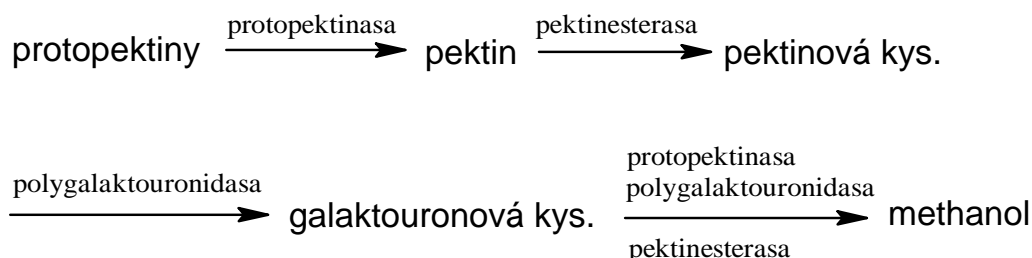
Působíme-li na aldehydy, které nemají na uhlíku  $\alpha$  k aldehydické skupině žádný atom vodíku koncentrovaným roztokem alkalického hydroxidu, oxiduje se jedna molekula aldehydu na útraty redukce molekuly druhé. Produktem je směs primárního alkoholu a kyseliny (Obr. 4). Tato oxidačně redukční reakce je reakcí Cannizzarovou [10, 12].



Obr. 4. Rovnice reakce aldehydu v alkalickém prostředí [10].

Methanol **v přírodě** vzniká z polysacharidu pektinu. Dochází k působení *protopektinasy* a protopektin se hydrolyzuje na pektin a ten je degradován *pektinesterasou* na kyselinu pektinovou. Štěpení kyseliny pektinové je katalyzováno *polygalaktouronidasou* na galaktouronovou kyselinu. Enzymy *protopektinasa* a *polygalaktouronidasa* katalyzují

hydrolýzu glykosidických vazeb, *pektinesterasa* katalyzuje hydrolýzu esterových vazeb za odštěpení methanolu (Obr. 5) [13, 14, 15].



Obr. 5. Enzymatická hydrolýza pektinových látek [13, 14].

## 1.4 Využití methanolu

V průmyslu se methanol používá jako rozpouštědlo, součást nemrznoucích kapalin, jako denaturační činidlo pro denuraci ethylalkoholu a jako výchozí látka pro výrobu formaldehydu, kyseliny octové, kyseliny mravenčí a *terc*-butyl(methyl)-etheru, který slouží jako antidetonační přísada do benzínů pro spalovací motory. V pokoutně vyráběném alkoholu event. jako znečištění (až 5 %) [2, 9].

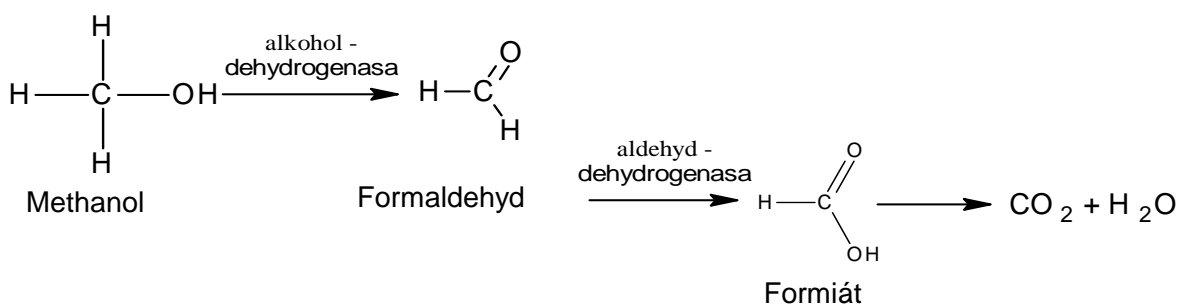
## 1.5 Výskyt a obsah methanolu

Methanol se jako základní člen homologické řady nasycených alifatických alkoholů vyskytuje v rostlinných materiálech ve formě různých esterů, nejčastěji jako ester benzoové, salicylové a skořicové kyseliny. Ve větším množství bývá přítomen ve vínech a některých dalších lihovinách. Obsah methanolu v citrusových šťávách je např. 24-47 mg/dm<sup>3</sup>, v jablečných moštích 36-88 mg/dm<sup>3</sup>, ve šťávách z černého rybízu 70-176 mg/dm<sup>3</sup>, ve vínech 20-240 mg/dm<sup>3</sup> (i přes 600 mg/dm<sup>3</sup>), v destilátech 320-400 mg/dm<sup>3</sup> a ve vodce 79-158 mg/dm<sup>3</sup> [16].

## 1.6 Metabolismus methanolu v lidském těle

Methanol se podobně jako ethylenglykol rychle vstřebává již v žaludku a v tenkém střevě, méně v plicích. V játrech je methanol konvertován *alkoholdehydrogenasou* na formaldehyd, který se dále mění na formiát (kyselina mravenčí) *aldehyddehydrogenasou*. Formiát je metabolizován na oxid uhličitý a vodu (Obr. 6). Poločas eliminace methanolu je velmi variabilní, při nízkých koncentracích methanolu a v nepřítomnosti ethanolu je kolem tří hodin, ale při současném požití methanolu a ethanolu se prodlužuje na přibližně padesát

hodin. Při vyšších koncentracích způsobuje přítomnost **formaldehydu** dráždění očí, kůže a dýchacího ústrojí. Pokud není v těle zmetabolizován, může reagovat s makromolekulami a způsobovat zesíťování DNA. Formaldehyd je jedovatý plyn s bodem varu  $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ , s baktericidním a dezinfekčním účinkem. Vdechování jeho par je škodlivé (má karcinogenní účinky). Enzymatická destrukce zahájená *alkoholdehydrogenasou* probíhá pomaleji než u ethanolu, takže maximální koncentrace **formiátu** v krvi je dosaženo teprve za dva dny po přívodu. Také toxické příznaky se vyvíjejí pomalu, s latencí 18-24 hodin. Hlavním příznakem je závažná acidóza, která se nedá vysvětlit pouze zvýšenou koncentrací formiátu, ale spočívá ve vzniku protonů při poruše buněčného metabolismu. Formiát totiž inhibuje *cytochromoxidasu* mitochondrií a tím na buněčné úrovni vyvolává nedostatek kyslíku. Formiát se tedy řadí mezi toxické látky a způsobuje i poruchy CNS [17, 18, 19].



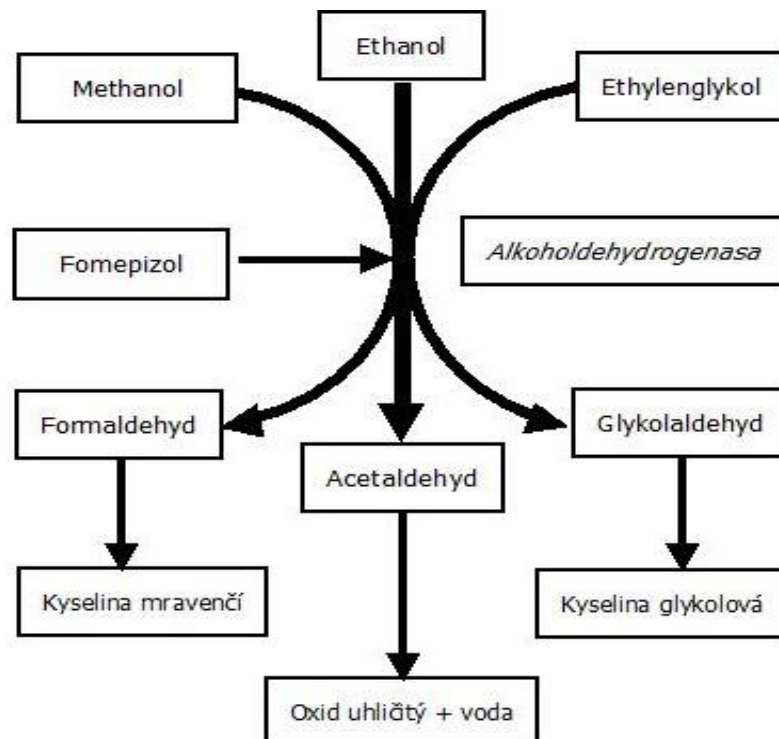
Obr. 6. Metabolismus methanolu [19].

Po krátkém období připomínajícím alkoholové opojení vyvolá methanol těžkou otravu. Dochází k zvracení, bolestem břicha, poruchám vidění až slepotě, k okyselení vnitřního prostředí, selhání dechu a smrti. K otravě methanolem může dojít také vdechováním par nebo dlouhodobou expozicí na kůži, ale zprávy o takové intoxikaci jsou vzácné a pravděpodobně to nevede ani k opilosti. Methanol je mnohem jedovatější než ethanol a protože se široce využívá technicky, vždy znovu se vyskytne záměna ethanolu za methanol. Společným problémem při diagnostice akutní intoxikace methanolem v různých zemích je omezená možnost rychlého stanovení methanolu a monitorování jeho hladin v séru při terapii antidoty v menších nemocnicích. Dříve se krev pro stanovení hladiny methanolu v séru posílala do fakultních nemocnic, což často vedlo k několikahodinovému zpoždění začátku léčby, protože se čekalo na výsledek, zejména pokud pacient nebyl ihned hospitalizován. Po tuto dobu v organismu pacienta probíhá oxidace methanolu na kyselinu mravenčí s rychlostí  $80\text{ mg/l/hod}$ . V případech těžké otravy s úmrtím pacientů byl

již methanol v séru nedetekovatelný, byl tedy již zmetabolizován na toxický formiát, což svědčí pro pozdní stadium otravy [18, 20, 21, 22].

### 1.6.1 Antidota

Antidota jsou léky, které váží nebo jinak inaktivují látku nebo antagonizují její toxický účinek. **Ethanol** zabrání tvorbě toxických metabolitů, protože ethanol a methanol jako substrát soutěží o tentýž enzym a ethanol zde má před methanolem přednost (*alkoholdehydrogenasa* má 20 krát vyšší afinitu k ethanolu než k methanolu) a tak lze metabolismus methanolu přívodem ethanolu účinně zpomalit. Dále se podává **kyselina listová**, která urychluje přeměnu kyseliny mravenčí na oxid uhličitý a vodu, podává se intravenózně v dávce 10 mg/den. **Fomepizol** je specifický antagonist *alkoholdehydrogenasy*, výhodnější než ethylalkohol, hlavně pro děti (nevyvolává opilst). Proto se při otravě methanolem nebo ethylenglykolem jako specifická léčba využívá ethanolu nebo fomepizolu, který kompetitivně inhibuje tvorbu toxických metabolitů, resp. mravenčí kyseliny z methanolu a kyseliny glykolové z ethylenglykolu (Obr. 7) [19, 23, 24].



Obr. 7. Metabolismus methanolu a ethylenglykolu [23].



### 1.6.2 Terapie

Při intoxikaci methanolem se pokusit co nejdříve vyvolat zvracení nebo výplach žaludku do jedné hodiny po požití, ale po velkém množství přijatého methanolu může být výplach účinný i později, protože dojde ke zpomalení vstřebávání ze žaludku. Vypláchnout ústa vodou a vypít cca 30-40 ml ethanolu (90-120 ml destilátu – vodka apod.). Doporučuje se také zakrytí (zavázání) očí z důvodu omezení kontaktu se světlem. V léčbě otrav methanolem používají lékaři ve všech zemích alkalizaci, podání antidota nebo hemodialýzu, což je léčebná metoda nahrazující základní funkci ledvin, čímž dochází k očišťování krve od zplodin látkové přeměny (metabolismu), a tvořící podstatu tzv. „umělé ledviny“ [2, 8].

## 2 HISTORIE VÝROBY DESTILÁTŮ

První zprávy o alkoholu můžeme nalézt již asi před pěti tisíci lety. Jeho původ však není možno přesně vystopovat, protože dějiny té doby jsou nám stále ještě značně utajeny. Je však prokazatelné, že Egypťané znali více než 28 druhů vína, většinou vyrobeného z hroznů a datlí. Rovněž vařili pivo z prosa a z pšenice, dále zkvašovali zápary připravené z medu a z lístků konopí, ze kterých připravovali opojné nápoje. Nic však nenasvědčuje tomu, že by v této době byla destilace již vynalezena [25].

Můžeme se domnívat, že asi v roce 800 před Kristem se v Indii poprvé destiloval arak (destilát vyrobený z palmového vína, v některých oblastech z prokvašené rýže a v novější době se k zápaře přidává i melasa).

Pozoruhodné je, že již Aristoteles, lékař a přírodovědec, ve 4. století před Kristem popsal poprvé fyzikální principy destilace, a to postup destilace mořské vody vedoucí k výrobě pitné vody. Námořníci si v té době připravovali přímo na lodi sladkou vodu tak, že vařili v otevřené nádobě mořskou vodu a vodní páry kondenzovaly na porézním materiálu (kousky vlny nebo mořské houby) zavěšeném nad hladinou vroucí vody [25, 26].

V Číně, Indii a Persii se pravděpodobně již na začátku našeho letopočtu vyráběly destilací různé éterické oleje. Další oblastí, kde byla objevena destilace, jsou území v dnešním Mongolsku a v okolí pouště Gobi, kde sídlili Tataři. Ti zkvašovali kobydí mléko v kožených vacích, to se potom destilovalo. Římský učenec Plinius si oblíbil horké víno, jež můžeme považovat za předchůdce našeho dnešního svařeného vína.

Když v roce 700 po Kristu dobyli Arabové Španělsko a založili tam mnoho škol a univerzit, přivezli s sebou do Evropy také destilaci jako novou metodu k oddělení těkavých látek. Arabové používali alkohol jako rozpouštědlo pro kosmetické účely a nazývali jej Al-ko-hue, což znamená něco jako jemně namletý třpytící se prášek na oční líčidla. Zajímavý způsob na oddělení alkoholu od vody používali Rusové a Poláci – používali metodu vymrazování [25, 26, 27].

Brzy nato vstoupila „pálivá voda“ také do křesťanských klášterů, kde tak vznikly první lihoviny vyrobené z bylin a alkoholu – bylinné likéry. Konečně františkán Ramon Lull a alchymista a lékař Arnaud de Villeneuve v roce 1280 pomohli této „pálivé vodě“ prolomit brány Evropy. Viděli totiž ve spojení vody (vína) a ohně nový produkt – kámen mudrců. A ve čtrnáctém století se pak nemocní nakažení morem léčili jalovcovým destilátem.

Jednou z prvních příruček popisujících výrobu pálenek je *Kniha destilace*. Autorem je Hieronymus Brunschwig (1450–1512). Tato kniha obsahuje nespočet receptů [25, 26].

Paracelsus (1493-1541, významný německý lékař, přírodovědec a filosof) dal nakonec pálivé vodě její definitivní název alkohol a napsal knihu o destilaci. Bouřlivý vývoj vědy a techniky přispěl ke vzniku moderního lihovarnictví, s jehož produkty, jako je skotská a irská whisky, benediktinka, calvados, vodka, gin, koňak, se dnes můžeme seznámit téměř všude [26].

Dějiny ovocnářství jsou také dějinami národa, určitým obrazem kultury země. Naše poloha ve střední Evropě, tj. vnitrozemí bez přímého ovlivňování mořem, mírné zimy, dostatečný slunečný osvit, vláha aj., vytvářela podmínky pro sklizeň kvalitního ovoce. Potvrzují to i záznamy v archivech. Vztah k ovocnému stromu jako součásti přírody, která souvisí s potravou člověka, býval v minulosti lepší a zejména ve druhé polovině 20. století nebyla péče vždy taková, jak by si toto odvětví zasloužovalo. Poohlédněme se do časů, kdy docházelo k velkému rozmachu pěstování ovoce a určitý dostatek nebo dokonce jeho nadbytek dával možnosti dalšího zpracování. K neodmyslitelnému koloritu venkova patřily ovocné aleje, stráně. Velkostatky mívaly sušárnu ovoce, lihovar, někde i marmeládku. Byly položeny základy k výrobě ovocných destilátů průmyslovým způsobem [28].

### 3 LEGISLATIVA V OBLASTI LIHOVIN A LIMITNÍHO MNOŽSTVÍ METHANOLU V DESTILÁTECH

#### 3.1 Legislativa v oblasti lihovin

Legislativou v oblasti lihovin se v České republice zabývá vyhláška Ministerstva zemědělství č. **335/1997 Sb.** Pro účely této právní normy se rozumí:

- a) lihem – rafinovaný líc kvasný, odpovídající požadavkům na líc pro výrobu lihovin, stanoveným zvláštním právním předpisem,
- b) aromatizací postup, kdy se při výrobě lihoviny nebo ostatního alkoholického nápoje použije jednoho nebo více aromat,
- c) zráním – postup, při kterém ve vhodné nádobě probíhají procesy, kterými získá příslušná lihovina nové organoleptické znaky,
- d) konzumním lihem – líc, upravený přidáním pitné vody na nejvýše 80 % obj. ethanolu,
- e) lihovinami – alkoholické nápoje obsahující nejméně 15 % obj. ethanolu, s výjimkou vína, piva a nápojů na bázi piva; u vaječného likéru se připouští minimální obsah ethanolu 14 % obj.,
- f) ostatními alkoholickými nápoji – nápoje obsahující více než 1,2 % obj. a méně než 15 % obj. ethanolu, kromě piva, vína a částečně prokvašeného hroznového moštu (burčáku),
- g) destiláty – alkoholické nápoje, jejichž ethanol pochází buď ze zkvašené tekutiny nebo ze zkvašené zápary, vyrobené z cukerné nebo zcukřené polysacharidické suroviny, v případech dále stanovených, z vydestilovaného částečně zkvašeného nebo nezskvašeného macerátu suroviny v lihu, lihovině nebo destilátu; chuť a zbarvení tohoto destilátu musí pocházet převážně ze zpracovaných surovin,
- h) kategorizovanými lihovinami – lihoviny, které nejsou destiláty a odpovídají definicím lihovin vyjmenovaných ve skupině kategorizované lihoviny,
- i) ostatními lihovinami – kategorizované lihoviny, které neodpovídají žádné z výše uvedených definic, přičemž v jejich označení je přípustný smyšlený název,
- j) míchanými lihovinami – lihoviny vyrobené přidáním jednoho alkoholického nápoje k jednomu nebo více alkoholickým nebo nealkoholickým nápojům,

- k) průtahovým destilátem – lihovina vyrobená z části rostlin macerací v lihu, lihovině nebo destilátu, popřípadě v jejich směsi a následnou destilací, přičemž charakteristická chuť a zbarvení musí pocházet ze zpracovaných částí rostlin; k úpravě chuti je možno použít pouze přírodní aromatické látky, avšak barvení není možné,
- l) ovocným destilátem – lihovina, jejíž ethanol vznikl výhradně destilací zkvašeného ovoce, ovocné dřeně, ovocné šťávy nebo jejich směsi bez přídavku cukru nebo cukernatých látek anebo destilací macerátu částečně zkvašených nebo nezkašených ostružin, jahod, borůvek, malin, trnek, šípků, jeřabin, plodů cesmíny, červeného rybízu, černého rybízu, jeřábu břek nebo černého bezu v lihu nebo lihovině nebo destilátu v poměru 100 kg ovoce na 20 litrů ethanolu o 100 % obj., přičemž směsný ovocný destilát je destilát vyrobený ze směsi dvou nebo více druhů ovoce; za destilát ze švestek neboli slivovici se považuje též destilát vyrobený přidáním, před druhou destilací, nejvýše 30 % obj. lihu ke švestkovému destilátu, pokud je zachována charakteristická chuť, vůně a barva, typické pro švestkový destilát,
- m) hořkou lihovinou – lihovina s převládající hořkou chutí, přičemž k aromatizaci je možno použít přírodní a přírodně identické aromatické látky,
- n) ovocnou lihovinou – lihovina, která byla vyrobena macerací ovoce v lihu, lihovině nebo destilátu v poměru nejméně 5 kg ovoce na 20 litrů ethanolu o 100 % obj.,
- o) ostatním alkoholickým nápojem se sníženým obsahem alkoholu je nápoj obsahující více než 0,5 % obj. ethanolu a nejvýše 1,2 % obj. ethanolu,
- p) Absolutní hodnota kladné i záporné odchylky obsahu ethanolu v procentech obj. od obsahu ethanolu vyznačeného na obalu je přípustná nejvýše 0,3 % obj. U alkoholických nápojů obsahujících macerované ovoce nebo části rostlin je přípustná hodnota 1,5 % obj. [29, 30].

Toxikologicky významné látky vznikající při zpracování potravin (tzv. procesní kontaminanty) jsou tradičně limitovány v případě methanolu v lihovinách. Zatímco pro konzumní líc a lihoviny jsou limity poměrně přísné (0,8-1,8 g/l a.a.), pro destiláty se podle původu a složení pohybují přibližně mezi 2-6 g/l a.a. Právě ovocné destiláty mohou obsahovat dokonce až 15 g/l a.a. methanolu (Tab. 1) [16].

### 3.2 Maximální přípustná množství methanolu

Tab. 1. Maximální přípustné množství methanolu je uvedeno v prováděcí vyhlášce k zákonu o lihu č. 141/1997 Sb., příloha 3 [35].

Druh lihu - ovocné a jiné destiláty	Ethanol v % objemových nejméně	Methanol v g/l nejvýše
borovičkový	37,5 až 70	15
hruškový	38 až 75	15
jablečný	38 až 75	15
meruňkový	38 až 75	15
slivovicový	38 až 75	15
třešňový	38 až 75	15
vinný	37,5 až 70	2
whiskový	40 až 94	15
broskvový	38 až 75	15
višňový	38 až 75	15
obilní	40 až 94	15

#### Přehled dalších zákonů a vyhlášek zabývajících se oblastí lihovin:

- Vyhláška č. 140/1997 Sb. o kontrole výroby a oběhu lihu a o provedení dalších ustanovení zákona o lihu s tím souvisejících ve znění pozdějších změn a doplňků [31],
- Vyhláška č. 157/2003 ve znění pozdějších změn a doplňků [32],
- Zákon č. 61/1997 Sb. o lihu ve znění pozdějších změn a doplňků [33],
- Zákon č. 353/2003 o spotřebních daních [34].

## 4 OVOCE PRO VÝROBU DESTILÁTŮ

K výrobě ovocného lihu lze s úspěchem použít ty plody, které obsahují dostatečné množství zkvasitelného cukru, poskytují pálenku s příjemnou ovocnou vůní. Jde o různé plody ovocných stromů, o bobule, révové i ovocné víno, o odpadky z výroby uvedených vín a jiné. Podobné destiláty ovocného charakteru se získávají také zpracováním marmelády nebo sušeného ovoce, ale zpravidla jen tehdy, když jsou k vlastnímu využití tyto suroviny nepoužitelné nebo neprodejné. Nejlepší surovinou na výrobu ovocných pálenek je ovoce peckovité a z něho hlavně švestky [36].

### 4.1 Druhy destilovaného ovoce

Podle druhu destilovaného ovoce se nazývá výsledný ovocný destilát jako slivovice, hruškovice, meruňkovice, broskvovice, jablekvice, třešňovice a jiné. Poměr zpracování jednotlivých druhů ovoce na výrobu ovocných destilátů závisí na úrodě ovoce v daném roce a oblasti, kde se destilát vyrábí. Největší zájem je tradičně o slivovici, hruškovici, meruňkovici a broskvovici a to jak na Moravě, tak i v Čechách [28, 36].

#### 4.1.1 Jádrové ovoce

Plody zvané malvice mají drobná semena, která jsou uložena v chrupavčitém nebo tvrdém jádřinci, z něhož vybíhá stopka a který je obklopen dužninou. Mezi jádrové ovoce se řadí jablka, hrušky, kdoule a mišpule [37].

##### **Jablka**

Pálenky z jablek jsou klasické destiláty. Jejich výroba je jednoduchá a často snad i proto podceňovaná. Pro výrobu alkoholu jsou vhodné všechny druhy jablek, to platí i pro vytríděná padaná jablka. Obsah cukru je mezi 8 a 12 %. Podle možností se mají vyrábět destiláty z jemné odrůdy. K tomu se hodí: Golden Delicious, Mantet, Grávštýnské, Arlet, Jonagold, Boskoopské červené a Summerred [27, 38].

##### **Hrušky**

Pro pálenice se používají stolní a moštové hrušky, co do množství však mnohem méně než jablka. Obsah cukru je mezi 5 a 12 %, přičemž vyšší hodnoty se dosáhne jen zřídka. U nás se uplatňují především krajové odrůdy s menšími plody. Letní odrůdy nejsou pro výrobu

pálenky moc vhodné, protože mají slabé aroma, které během výroby mizí a destilát je nevýrazný. Pro vynikající kvalitu musíme zvláště zdůraznit dvě odrůdy hrušek:

- Medovka - velmi sladké hrušky, jejichž výtěžek není bohužel zvlášť vysoký. Z ní vyrobený destilát má skvělou pověst a prodává se pod značkou „Scheuerbirnenbrand“,
- Williamsova čáslavka - je to vynikající hruška a vyrábí se z ní znamenitá pálenka „Williamsbrand“. Odrůda je velmi plodná, ale trochu náchylná ke strupovitosti. V lepších ovocnářských střediscích by se ji vyplatilo pěstovat jen pro pálení [38, 51].

### **Kdoule**

Kdoule jsou považované za cenné, léčivé plody a pro egejskou oblast jsou symbolem plodnosti. Jde o lákavě vypadající ovoce, které není vhodné pro použití v čerstvém stavu. Vysušená ovocná dřeň s vysokým počtem pecek klade vysoké nároky na přípravu rmutu a na vlastní kvašení. Důležité je jemnější namletí a tím i úplné zpřístupnění ovoce. Jen tak se může zajistit plynulé a rovnoměrné kvašení. Na ústním patře působí pálenka velmi jemně. Snad je to důvod, proč se kdoule i přes intenzivní aroma ve světovém měřítku lihovin jako surovina neprosadila.

### **Mišpule**

Tento keř či stromek patřící do čeledi růžovitých pochází z Kavkazu. Pro výrobu pálenky je ovoce, bohaté na sacharidy a pektin, sice vhodné, ale zatím spíš stojí v řadě čekatelů na využití [27].

#### **4.1.2 Peckové ovoce**

U dužnatých plodů se oplodí skládá ze tří částí: exokarp (tedy lidově slupka), mezokarp (dužnina) a endokarp (vnitřní část – pecka). Mezi peckové ovoce se řadí broskve a meruňky, třešně, švestky, slívy, trnky a mirabelky [39].

#### **Broskve a meruňky**

Jedná se o cenné ovoce používané pro konzum, výrobu marmelád a kompotů, do pálenic přichází zpravidla jen jako nekvalitní nebo havarované. Typické aroma se bohužel při kvašení silně ztrácí. Meruňkový kvas je nutno po prokvašení rychle oddestilovat, jinak dochází k další ztrátě aromatu. Obsah cukru mají do 10 %. Pro špičkové destiláty je třeba použít jen plody plně vyzrálé na stromě [38].



### **Třešně**

Poskytují vynikající destilát, který je znám pod značkou „Kirschwasser“. Obsah cukru třešní kolísá mezi 9-18 % a činí v průměru 10–12 %. Zvláště dobrá je třešňovice z ptáčnic. Česají se sice pracně, ale pro tuto specialitu se vyplatí. Z konzumních odrůd jsou vhodné opět odrůdy pozdější. K výrobě destilátů se hodí též višně. Obsah cukru je přinejmenším stejný jako u třešní, ne-li vyšší. Mají pouze podstatně vyšší obsah kyselin. Při pálení může u kotlů pro přímý ohřev dojít k potížím, protože pecky se snadno připalují [38].

### **Švestky**

Nejlepší švestkové destiláty jsou z domácí švestky. Dobře vyzrálé mají vysoký obsah cukru, který může dosáhnout až 15 %. Švestky mají zůstat na stromě co nejdéle, aby dosáhly maximální tvorby cukru. Plody se mohou klidně už trochu scvrkávat. Urychlit sklizeň se doporučuje jen tehdy, kdyby nastalo nepříznivé počasí, takže by švestky mohly podlehnout zkáze. Podzimní mrazíky švestkám neškodí. Na světě je známo více než 2000 odrůd, zásadně se rozlišuje mezi kulatými (švestky) a podlouhlými (slívy) tvary [27, 40].

### **Slívy**

Plody jsou oválnější a dužnina měkčí. Obsah cukru a kyselin je trochu nižší než u švestek a plody jsou také méně aromatické. Maso lpi neoddělitelně na pece, proto se připravuje rmut i s peckami a teprve po kvašení se většina pecek oddělí. Destilát má proto obvykle zřetelný peckový charakter. V chuti a vůni je zřetelná příbuznost se švestkou, ale v celkovém aroma je destilát ze slívy výrazně jemnější [27, 38].

### **Trnky**

Trnky jsou kulaté plody dosahující v průměru až 15 mm, rostou na trnitém keři. Působením mrazu se na podzim změň na tříslovinami bohaté plody, požitelné a sladké. Neobsahují mnoho dužniny a nedají se odpeckovat. To propůjčuje destilátu specifické peckové aroma [27].

### **Mirabelky**

Mirabelky jsou žluté, kulaté a velikostí se podobají švestkám. Mají velmi příjemnou a sladkou chuť. Vysoký obsah cukru (až 15 %) předurčuje dobré výtěžky. Destilát z mirabelek je vynikající a aromatický [42].

### 4.1.3 Drobné ovoce (bobulové ovoce)

Drobné ovoce je nejrozšířenější skupinou našich ovocných rostlin. Plody bobulového ovoce mají velmi jemné buněčné stěny. Semena jsou volně uložena uvnitř nebo na povrchu dužniny. Bobulové ovoce je velmi bohaté na fenolické látky, které v těle fungují jako antioxidanty. Mezi drobné ovoce patří černý rybíz, jeřabiny, jalovčinky, maliny, ostružiny a jahody [42].

#### Černý rybíz

Obsah cukru činí v průměru 4–5 %. Výtěžky alkoholu jsou proto spíše nižší. Při pálení je třeba dát pozor, aby kvas nepřepěnil. Bezinkový destilát má typickou chuť a je uznávanou specialitou [38].

#### Jeřabiny

Pro lihovarníky jsou divoké formy jeřabin zajímavější než šlechtěné a pěstované. Přinášejí sice daleko méně cukru, a tím dávají i menší výtěžky, ale dodávají destilátu intenzivnější, silnější aroma po hořkých mandlích a marcipánu. Zpracování probíhá výhradně s otrhanými plody, aby nevznikly žádné hořké a travnaté příchutě. Sběr a zpracování kvasu jsou velmi pracné, výtěžky spíš nízké. Cena pálenky je proto také podstatně vyšší než u běžných ovocných destilátů. Obsah cukru činí mezi 4-8 % [27, 38].

#### Jalovčinky

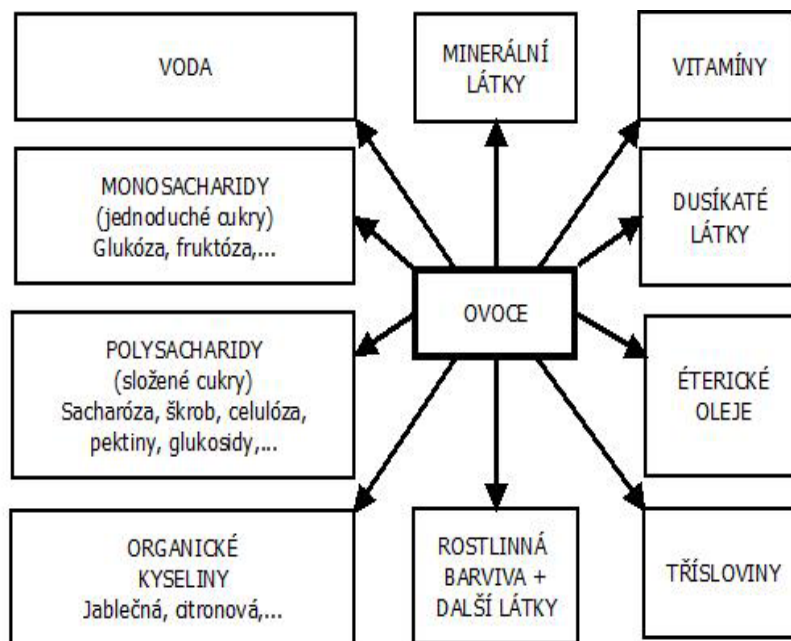
Jsou to (nepravé) plody jalovce. Mají značný obsah cukru, v suchých plodech činí 20-30 %. Mimoto obsahují hodně pryskyřice a éterických olejů, které destilátu, např. borovičce, propůjčují specifickou chuť a vůni. Čistý jalovčinkový destilát se dnes už skoro nepije, většinou se připravuje řez s nějakým neutrálním destilátem [38].

#### Maliny

Žádný jiný destilát z bobulí nedosáhl takové vůně a zřetelného primárního aroma, kterým si právě malinová pálenka získala oblibu. Pravý malinový destilát je vzhledem k nízkým výtěžkům ještě stále raritou. Maliny ale brzy plesnivějí, a proto se musí zpracovat rychle [27, 38].

## 4.2 Chemické složení ovoce

I když výsadní postavení z pohledu výroby alkoholu má obsah cukru, jsou všechny látky stejně důležité a v souhrnu tvoří harmonický celek. Budou se různým způsobem uplatňovat v průběhu kvasných pochodů, destilace a skladování pálenky. Zastoupení a poměr látek obsažených v ovoci (Obr. 8) je závislý jak na druhu ovoce, tak i na podmínkách jeho pěstování, sklizni, skladování apod. [28, 42].



Obr. 8. Chemické složení ovoce [28].

### Voda

Voda tvoří 80 až 90 % ovoce zpracovávaného v pálenicích. U ovocných plodů se převážná část vody nachází ve vakuolách buněk. Před sklizní i po sklizni je voda nezbytným prostředím pro všechny biochemické a mikrobiální přeměny v ovoci. Nadměrný výpar vody narušuje stabilitu přirozených fyziologických procesů a způsobuje nežádoucí biochemické reakce. Navenek se projevuje vadnutím ovoce a ztrátou hmotnosti. Ovoce se potom stává konzumně a zpracovatelsky nevhodným [43, 44].

### Vitaminy

K tomu, aby byla nějaká látka uznaná jako vitamín, musíme s určitostí vědět, že je pro funkce lidského těla nezbytná v nepatrném množství a že si ji tělo samo neumí většinou vytvořit. Ovoce a zelenina obsahují ve svých plodech, semenech i slupkách mnoho biologicky účinných látek. Všechny vitamíny A, B, E a PP jsou obsaženy v každém ovoci,

ale v rozdílném množství. Vitamíny skupiny B slouží jako důležité růstové látky pro kvasinky, ale zmiňovat se o důležitosti vitamínů zaměřené na výrobu ovocných destilátů nemá velký smysl, protože o ně během pálení přijdeme [44, 50].

### Sacharidy

Sacharidy označujeme polyhydroxyaldehydy a polyhydroxyketony, které mají nejméně tři alifaticky vázané uhlíkové atomy, a dále látky, které se z nich tvoří vzájemnou kondenzací za vzniku acetalových vazeb. Podstatou výroby ovocné pálenky je přeměna cukrů na alkohol ve fázi kvašení a jeho oddělení destilací. Proto je obsah cukru významným faktorem. Ovocné druhy, jejich odrůdy a půdní a meteorologické podmínky určují množství cukru a dalších látek [13, 42].

Z **monosacharidů** je v ovoci obsažena zejména **glukosa** (tzv. hroznový cukr). Vyskytuje se především ve sladkých plodech, kde bývá doprovázena fruktosou. V zelených částech rostlin, schopných asimilace, je doprovázena škrobem. Redukcí se glukosa mění v alkohol sorbit a oxidací v kyselinu glukonovou až cukrovou. Glukosa snadno alkoholicky zkvašuje vlivem enzymu *zymasy*, působením jiných enzymů zkvašuje mléčně (mléčnými bakteriemi), máselně (bakteriemi máselnými) a bakterie octové ji okysličují na kyselinu glukonovou. **Fruktosa** (tzv. ovocný cukr) zkvašuje lihově stejně snadno jako glukosa a podléhá stejným účinkům enzymů bakteriálních a plísňových jako glukosa. Tvoří jednoklonné krystalky ve vodě snadno rozpustné, ale za studena téměř nerozpustné v alkoholu. **Manosa** je aldosa vyskytující se v rostlinách ve formě svých polyglykosidů mananů. Je snadno rozpustná ve vodě a redukcí přechází v šestisytý alkohol manit, oxidací v kyselinu manovou až cukrovou. Vlivem *zymasy* zkvašuje stejně dobře jako oba předešlé cukry. **Galaktosa** je aldohexosa a tvoří složku disacharidu laktosy (cukru mléčného), rafinosy, stachyosy apod. Lihově kvasinkami zkvašuje jen málo a pouze některými druhy kvasinek. Snadněji je *zymasou* napadána, jsou-li v roztoku přítomny i cukry snadno zkvasitelné. **Sorbosa** je ketohexosa a nachází se ve zkvašené jeřabinové šťávě, která byla delší dobu vystavena samovolnému kvašení. Tvoří se ze sorbitu vlivem bakterie *Bacterium xylium*. Lihově se sorbosa nezkašuje [45].

**Oligosacharidy** zahrnují disacharid **sacharosu** (tzv. třtinový cukr), která je hojně rozšířená s glukosou a fruktosou. Šťáva cukrové třtiny obsahuje až 26 %, cukrová řepa až 20 % sacharosy. Ovoce obsahuje 0,5 až 18 % sacharosy. Zahřátím nad 180 °C karamelizuje a jako taková se používá k barvení likérů. Není zkvasitelná až po podlehnutí

hydrolyze a přeměně na své složky. Hydrolyza nastává působením enzymu *invertasou*, obsaženou v kvasnicích. Kvasinky působící v roztoku třtinového cukru nejprve rozloží sacharosu na glukosu a fruktosu pomocí enzymu *invertasy* a ty jsou lihově zkvašovány. Některé kvasinky *invertasu* neobsahují, a proto sacharosu nezakvašují. **Maltosa** je málo rozpustná ve vodě a její sladkost odpovídá 2/6 sladkosti sacharosy. Působením kyselin nebo enzymem *maltasou* se maltosa hydrolyzuje na dvě molekuly glukosy. **Genciobiosa** se kyselinou nebo enzymem *emulsinem* štěpí na dvě molekuly glukosy. Enzym je obsažen v kořeni hořce, ale i kvasinkách, tudíž je genciobiosa lihově zkvašována. K dalším disacharidům patří také celobiosa a turanosa [45, 46].

**Polysacharidy** jsou vysokomolekulové látky sestávající z mnoha desítek až tisíců cukerných jednotek. V nezralém ovoci se vyskytuje polysacharid **škrob**, který je směsí dvou polysacharidů: amylosy (asi 20 %) a amylopektinu (asi 80 %). V období růstu plodů se zvětšuje na několik procent a při dozrávání klesne na řádově 1 %. Při zrání (i skladování) se mění v sacharosu, invertující se v jednoduché cukry (glukosu, fruktosu), takže při plné zralosti hodnota škrobů klesne zhruba na 1/4 a cukry dosáhnou zbytkové hodnoty původního obsahu škrobu v sušině. **Celulosa** je stavební látkou rostlinných blan buněčných. Stejně jako škroby patří mezi polysacharidy. Z pohledu průmyslového je u způsobu výroby lihu významné, že ji lze přeměnit až na jednoduché cukry (glukosu). Ve vodě je nerozpustná. Pektiny patří do skupiny makromolekulárních sacharidů. **Pektin** je součástí buněčné stěny rostlin. Bylo zjištěno, že v dřeni nezralého ovoce je obsažena látka nerozpustná ve vodě, alkoholu a etheru – pektosa, která doprovází celulosu v buněčných stěnách. Pektosa je obsažena v nezralém ovoci a způsobuje jeho tvrdost. V průběhu zrání plodů přechází pektosa v rozpustnou látku – pektin. Pektin, který je obsažen ve zralém ovoci, je látka rozpustná ve vodě. **Glykosidy** jsou sloučeniny cukrů s alkoholy, aldehydy, fenoly, tříslivými kyselinami, se sloučeninami síry a dusíku. V rostlinách jsou to jakési „zásobní“ látky. V ovoci jsou přítomny především ve slupce a semenech. Např. enzym *emulsin* štěpí glukosid amygdalin na glukosu, benzaldehyd a kyanovodík. Působením mikroorganismů na amygdalin vzniká pouze glukosa [13, 42, 43, 46].

### Organické kyseliny

Látky, které do roztoku uvolňují proton za vzniku  $H_3O^+$ , se nazývají kyseliny. Jejich procentový podíl je, až na výjimky, menší než cukrů, se kterým přispívají k chuťové vyváženosti ovocných šťáv. Čím vyšší je koncentrace  $H_3O^+$ , tím je roztok kyselejší.

V množstvích, v jakých se vyskytují, jsou pro lidské zdraví prospěšné. Obsah kyselin v kvasu je důležitý jako ochrana před bakteriální nákazou. Tak jsou kvasy z ovoce bohatého na kyseliny, např. jablek, méně napadány než kvasy na kyseliny chudé, např. z hrušek Williams-Christ [28, 42].

Přítomnost **kyseliny jablečné** je charakteristická pro jádrové a peckové ovoce. Pouze kyselina jablečná je zastoupena např. v nezralých jeřabinách, odkud se nechá po neutralizaci vápnem a varem získat vysrážením jablečnan vápenatý. Tato kyselina se nechá snadno vyrábět syntetickou cestou. Má příjemnou kyselou chuť, je pro organismus člověka nezávadná a je proto součástí ovocných šťáv a cukrovinek. **Kyselina citronová** patří také mezi nejvíce v ovoci zastoupené organické kyseliny. Vyskytuje se společně s kyselinou jablečnou a převládá v ovoci bobulovém. Samotná je zastoupena v angreštu. Procentuálně nejvíce je jí v citronech (6-8 %). Kyselina citronová nachází velké upotřebení v potravinářském průmyslu (nealkoholické nápoje, kypřící prášky do pečiva aj.), přísady do barvicích látek v textilním průmyslu, tiskařství, k lékařským účelům. První způsoby jejího získávání byly z citronové šťávy. Vzhledem k potřebám se vyrábí efektivnějšími způsoby např. zkvašováním cukerných roztoků (melasa apod.) plísněmi. **Kyselina vinná** se v běžných druzích ovoce, které se využívají na výrobu destilátů, nevyskytuje nebo je zastoupena v zanedbatelném množství. Významněji je zastoupena v bobulích vinné révy (0,21-0,74 %) a o jeden řád ještě méně v angreštu, rybízu. V koncentrované podobě má obdobné upotřebení jako kyselina citronová. **Kyselina šťavelová** je jedovatá kyselina, jejíž vliv je vzhledem k vyskytující se koncentraci v přírodě zanedbatelný. Je hojně zastoupena (její soli) např. v rebarboře, šťovíku, cukrové řepě apod. Smrtelná dávka je 5 g. Soli v organismu člověka snadno pronikají do krve a mění její zásaditou povahu. Technické uplatnění má např. v některých nepotravinářských oblastech (fotografické metody, odstraňování skvrn z textilií apod.). **Kyselina benzoová** je obsažena v brusinkách a v klikvě. Má silné antiseptické účinky, a proto způsobuje u těchto plodů špatnou zkvasitelnost moštů. **Kyselina jantarová** se ve větším množství tvoří při lihovém kvašení deaminací glutaminové kyseliny obsažené v bílkovinách kvasnic. Stopově se vyskytuje v nezralých višních, černém rybízu, třešních, jablkách, v nezralém angreštu a v hroznech. Má velmi nepříjemnou chuť [15, 28].

### **Třísloviny**

Třísloviny jsou složky rostlinného původu. Řadí se mezi polyhydroxyfenoly vykazující trpkou a svíravou chuť. Ovlivňují chuťové vlastnosti některých potravinářských surovin (hroznového vína), ale i jejich barvu. Dělí se na podskupiny taninů, katechinů a depsidů. Jejich množství je důležité pro zjišťování vhodnosti ovocných odrůd ke zpracování. Ve větších množstvích jsou obsaženy také v dřevěch dubů, kaštanů aj. Prostřednictvím uskladnění destilátů v dřevěných sudech je možno využít jejich rozpustnosti v lihu k dochucování destilátů [28, 47].

### **Minerální látky**

Minerální látky jsou přítomny v různém množství a to podle druhu a odrůdy ovoce. Nejvíce se vyskytují ionty prvků K, Na, Mg, Ca, Cl, S, P a Si. Jsou zastoupeny i některé stopové prvky jako Cu, Mn, B. Vápník se podílí na tvorbě některých tkání, kostní dřevě, zubů. Železo se účastní při tvorbě krevního hemoglobinu. Nejvíce je ho v lesních jahodách, borůvkách, hroznech vinné révy. Nedostatek železa způsobuje chudokrevnost. Měď je důležitá pro výměnu látek u člověka a její nedostatek v organismu může způsobit chudokrevnost. V ovoci, zelenině a v jiných potravinách je v nepatrném množství, které nemůže způsobit lidskému organismu žádné škody. Ve větších dávkách způsobuje nevolnost, zvracení a průjem. Dávky nad 1 g jsou smrtelné. Organismus může beze škody na zdraví denně přijmout přibližně 4-5 mg mědi. Olovo je v menším množství obsaženo v ovoci. Dávka 0,3 g olova způsobuje otravu. Olovo se může zachytit na ovoci ve větším množství při postřiku ovocných stromů proti škůdcům a houbovým chorobám (pokud je tam jako účinná složka obsaženo). Arzen se vyskytuje také v menším množství v ovoci. Stejně jako v případech olova nebo mědi užití postřiků obsahujících jako účinnou látku arzen nebo jeho sloučeniny se jeho hodnota může výrazně zvýšit. Proto se má ovoce před jídlem nebo zpracováním vždy omýt vodou. Arzen byl zjištěn i v sušeném ovoci, a to v neloupaných hruškách v množství 0,02 mg až 0,34 mg arzenu na 1 kg ovoce [28, 48].

### **Éterické oleje**

Přispívají vedle cukrů a kyselin k chutnosti ovoce. Jde o komplikovanou směs různých více méně příbuzných sloučenin (uhlovodíky, zvláště terpeny, alkoholy, aldehydy, ketony, fenoly, kyseliny, estery apod.). Jejich vůně a chuť je velmi intenzivní. Pro specifické aroma ovoce jsou velmi významné estery a aldehydy, méně se uplatňují alkoholy [49].

### **Vláknina**

Na celkové struktuře plodu se podílí spolu s ligninem, pektinem a dalšími složkami pro zdraví důležitá látka zvaná vláknina. Její nedostatek ve výživě může být příčinou některých chorob trávicího ústrojí. Vláknina totiž působí příznivě na peristaltiku střev. Bohatá na vlákninu jsou jablka, ale i hrušky nebo broskve. Někdy se v dužině ovoce vytvoří nepříjemně dřevitá vlákna [44].

### **Dusíkaté látky**

Jsou skupinou obsaženou v ovoci, která se uplatňuje i jako živina pro kvasné mikroorganismy. Mošty z vinné révy a z černého rybízu snadno kvasí s poměrně vysokým obsahem alkoholu i z důvodů velkého obsahu dusíkatých látek, na rozdíl od jiných (např. brusinky, borůvky), kam se pro zlepšení kvašení obvykle přidávají amoniakální nebo amidové sloučeniny (chlorid amonný apod.) [28].

## **4.3 Příprava ovoce pro kvas**

Upravit ovoce do nejvhodnější podoby tak, aby kvasné pochody probíhaly co možná nejlepším způsobem, patří mezi základní činnosti. Každé ovoce musí být pochopitelně bez nezralých, nahnilých plodů, větviček, listů, čisté, v případě potřeby propláchnuté vodou, bez stopek u ovoce, které je mají „velké“ vzhledem k plodu (třešně, rybíz apod.) [28].

### **Praní**

Před přípravou ovocného rmutu se musí ovoce pečlivě očistit a je nutno odstranit stopky, zbytky zeminy a rušivé mikroorganismy. K praní se může použít různé strojní zařízení, nejvhodnější je však pračka bubnová pro tvrdé ovoce nebo pračka kartáčová pro všechny typy plodů, vhodné jsou různé druhy praček např. vibrační, vzduchové atd. Menší objemy suroviny lze opláchnout ve splávku [42, 51].

### **Odstopkování**

Některé druhy ovoce, zvláště s větším množstvím zbytků mateřské rostliny a s jemným citlivým aroma, se musí odstopkovat např. třešně, rybíz, jeřabiny. Pokud je ovoce již předem určené pro výrobu destilátu, tak se sklízí již bez stopek. K odstopkování jsou

vhodné strojní odstopkovače, kdy je stopka odstraněna pohybem dvou proti sobě rotujících válců [51].



### **Drcení**

Ovoce má být pro kvašení pokud možno jemně rozmělněno čímž se uvolní cukr z rostlinných buněk. Mělnění má ale určité hranice, neboť zároveň je třeba vzít v úvahu, že pecky a jádra nesmějí být rozbity. Proto se k mělnění peckového a jádrového ovoce používají různé přístroje. Jemné peckové nebo bobulové ovoce se rozmělní pomocí míchaček nebo řezaček, poháněných silnou vrtačkou. Plody se takovou míchačkou řádně rozřežou a často tak kompletně odpadne dužnina od pecky. K mělnění jádrového ovoce se používají tzv. „rozmělnovače“, struhadlové nebo kladívkové mlýnky [42].

### **Doprava, čerpání, míchání**

Rozmělněné plody se v pálenicích dopravují **čerpadly**, tzv. excentrickými šnekovými pumpami. Jde o rotační čerpadlo, u něhož se rotující element (excentrický šnek) otáčí kolem stacionárního elementu (statoru). Otáčivý pohyb rotoru posouvá čerpaný materiál rovnoměrně dutinou mezi rotorem a statorem. Tak lze dopravovat pevné látky s průměrem od 5 do 27 mm, podle typu čerpadla, téměř bez poškození. K **dopravě** pasírovaných rmutů a rmutů z bobulí, stejně jako všech tekutin se ideálně hodí lopatková čerpadla. Jedná se obvykle o suchá samonasávací rotační čerpadla, u nichž jsou jednotlivé lopatky oběžného kola uloženy na excentrické desce, čímž se na sací straně mezi lopatkami zvětší prostor a vzniká vakuum. Proces **míchání** je v pálenici velmi důležitý: na jedné straně v kvasných nádržích k rovnoměrnému rozdělení kvasinek, enzymů a kyselin, na druhé straně v destilačním kotli k rovnoměrnému zajištění výměny tepla při zahřívání nebo chlazení. Při míchání musí být celý obsah nádoby v pohybu a ne jen malá část okolo ponořené lopatky míchadla [36, 43].

### **Odjádrování, odpeckování, pasírování**

Funkce pasírovacích a odpeckovacích strojů je zcela jednoduchá. Při zpracování peckového ovoce se dá ovoce podle druhu a stavu zralosti, nerozdrcené anebo hrubě nadrcené do násypky odpeckovače. V bubnovém sítu je vícelopatkový rotor, který je opatřen gumovými válci. Ten tlačí ovoce na síto bubnu a seškrábne ovocnou dužninu z pecek. Ovocná dužnina a rozdrcené části slupek protékají sítem do zachycovací nádoby. Pecky, stopky, znečištění a tvrdé části slupek jsou vynášeny na konci stroje [36].

## 5 ALKOHOLOVÉ KVAŠENÍ

Živé objekty dovedou odbourávat sacharidy na jednodušší sloučeniny, čímž získávají energii potřebnou pro četné fyziologické funkce. Alkoholové kvašení je anaerobní rozklad cukrů na ethanol a oxid uhličitý, který je katalyzován enzymy, jež vytvářejí mikrobiální buňky. Cílem fermentace při výrobě destilátů není pouze maximální produkce ethanolu, ale tvorba celé řady sensoricky významných látek, které vytvářejí typický charakter výsledného výrobku [29, 51].

### 5.1 Fáze ethanolové glykolýzy

Základním anaerobním katabolickým procesem je tzv. glykolýza neboli Embden-Meyerhofova metabolická dráha, která se skládá z osmi fází (Obr.9):

- 1) v první fázi nastává fosforylace glukosy účinkem *hexokinasy* (ATP: *D-hexosa-6-fosfotransferasa*) za vzniku glukosa-6-fosfátu,
- 2) glukosa-6-fosfát je dále izomerován na fruktosa-6-fosfát účinkem *glukosafosfatisomerasy* (*D-glukosa-6-fosfát-ketolisomerasa*),
- 3) fruktosa-6-fosfát je dále účinkem *fosfofruktokinasy* a za účasti ATP fosforylován na fruktosa-1,6-bisfosfát a ten je potom *aldolasou* (*fruktosa-1,6-bisfosfat-D-glyceraldehyd-3-fosfatlyasa*) štěpen na 2 molekuly triosafosfátu, tj. na 1 molekulu glyceraldehyd-3-fosfátu a 1 molekulu dihydroxyacetonfosfátu. Oba triosafosfáty jsou udržovány v rovnováze enzymem *triosafosfatisomerasou* (*D-glyceraldehyd-3-fosfat-ketolisomerasa*). V rovnovážném stavu převládá dihydroxyacetonfosfát (96 %),
- 4) do další reakce vstupuje glyceraldehyd-3-fosfát. Tím se ovšem posunuje rovnováha triosafosfátu, takže se působením *triosafosfatisomerasy* postupně převádí dihydroxyacetonfosfát na glyceraldehyd-3-fosfát. Glyceraldehyd-3-fosfát je dehydrogenován za účasti koenzymu  $\text{NAD}^+$  a současně fosforylován. Vzniká kyselina 1,3-bisfosfoglycerolová. Tuto reakci katalyzuje *triosafosfatdehydrogenasa* (*D-glyceraldehyd-3-fosfat:NAD-oxidoreduktasa*). Vzniklý NADH nemůže být reoxidován v dýchacím řetězci, protože ethanolová glykolýza je anaerobní pochod, tedy není přítomný kyslík, na nějž by mohl být přenesen vodík z NADH. NADH se reoxiduje v poslední fázi ethanolové glykolýzy tím, že přenáší svůj vodík na acetylaldehyd. Tímto způsobem se regeneruje  $\text{NAD}^+$ ,

- 5) působením *ATP:3-fosfoglycerat-1-fosfotransferasy* se z kyseliny 1,3-bisfosfoglycerové odštěpuje kyselina fosforečná, vázaná na prvním uhlíku, a přenáší se na ADP. Vzniká tedy ATP a kyselina 3-fosfo-D-glycerová,
- 6) kyselina 3-fosfoglycerová se potom působením *fosfoglyceromutasy (fosfotransferasa)* přeměňuje na kyselinu 2-fosfo-D-glycerovou. Z té se pak za katalytického působení *enolasy (2-fosfo-D-glycerat-hydrolasa)* odštěpuje voda a vzniká kyselina 2-fosfoenolpyrohroznová. Z kyseliny fosfoenolpyrohroznové se působením *fosfotransferasy* uvolňuje fosfát, který se váže na ADP za vzniku ATP, a vznikne kyselina pyrohroznová,
- 7) kyselina pyrohroznová je potom dekarboxylována působením *pyruvatdekarboxylasy (2-oxoacid-karboxylyasa)* za vzniku acetaldehydu a oxidu uhličitého,
- 8) v poslední fázi ethanolové glykolýzy je acetaldehyd redukován pomocí NADH, vzniklého při oxidaci glyceraldehyd-3-fosfátu, na ethanol [52].

**Schéma ethanolové glykolýzy:**

- 1)  $\text{glukosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{hexokinasa}} \text{glukosa-6-fosfát} + \text{ADP}$
- 2)  $\text{glukosa-6-fosfát} \xrightarrow{\text{glukosafosfatisomerasa}} \text{fruktosa-6-fosfát}$
- 3)  $\text{fruktosa-1,6-bisfosfát} \xrightarrow{\text{aldolasa}} \text{glyceraldehyd-3-fosfát} + \text{dihydroxyacetonfosfát}$
- 4)  $\text{glyceraldehyd-3-fosfát} + \text{NAD}^+ + \text{H}_3\text{PO}_4 \longrightarrow \text{1,3-bisfosfoglycerová kys.} + \text{NADH} + \text{H}^+$
- 5)  $\text{1,3-bisfosfoglycerová kys.} + \text{ADP} \longrightarrow \text{3-fosfoglycerová kys.} + \text{ATP}$
- 6)  $\text{2-fosfo-D-glycerová kys.} \xrightarrow{\text{enolasa}} \text{2-fosfoenolpyrohroznová kys.} + \text{H}_2\text{O}$   
 $\text{2-fosfoenolpyrohroznová kys.} + \text{ADP} \longrightarrow \text{pyrohroznová kys.} + \text{ATP}$
- 7)  $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H} \xrightarrow{\text{dekarboxylasa}} \text{CH}_3\text{CHO} + \text{CO}_2$
- 8)  $\text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+$

Obr. 9. Anaerobní ethanolová glykolýza [52].

## 5.2 Mikroorganismy doprovázející kvašení

Ovocné destiláty jsou potravina. Aby mohla být zaručena vysoká kvalita konečného produktu a zabráněno zkáze během výroby, je nezbytné mít znalosti o kvasinkách, bakteriích a plísních [28].

### 5.2.1 Kvasinky

Kvasinky jsou jednobuněčné organismy a botanicky jsou řazeny k houbám. Důležitými vlastnostmi při hodnocení kvasinek pro produkci alkoholu jsou schopnost zkvašování, tolerance k alkoholu, rezistence k teplotě a cukru a tvorba vedlejších kvasných produktů.

#### Divoké kvasinky

V čerstvých ovocných rmutech převažují a rmut nakvášejí, ale protože tyto kmeny jsou velmi citlivé na alkohol, nemohou kvas zcela prokvasit. Jejich největší výhodou spočívá především v tvorbě kyseliny octové a esterů, které později propůjčují destilátu netypické aroma. Mezi divoké kvasinky se řadí např. *Brettanomyces*, *Deckera*, *Kloeckera* a *Hanseniaspora*.

#### Čisté kultury kvasinek

Všechny dnes nasazované čisté kultury kvasinek patří k druhu *Saccharomyces cerevisiae*. V tomto druhu se ovšem rozlišuje asi 1000 různých ras s rozdílnými vlastnostmi. Pro prokvašení ovocných rmutů je možno koupit speciální kvasinky nebo použít kvasinky vinné. Tyto kvasinky vykazují vysokou toleranci k alkoholu a schopnost prokvašet do 20 % obj. alkoholu. Jsou optimálně přizpůsobeny na kvasnou teplotu od 15 do 18 °C a ještě mohou prokvašet rmut při nízké hodnotě pH, při pH okolo 3. Za těchto podmínek nemají divoké kvasinky a bakterie už žádnou šanci. Zajímavé je nasazení tzv. chladnomilných kvasinek, které kvasí ještě při teplotách od 8 do 10 °C, přičemž ztráty alkoholu a aromatických látek jsou tím menší, čím je nižší kvasná teplota [42, 54].

#### Aromatické kvasinky

Tyto rasy vytvářejí v ovocném kvasu především buketní látky, jejichž broskvové nebo meruňkové vůně v jemných nuancích mohou podpořit vlastní ovocný tón pozdějšího destilátu [28].

### Kvasinky pro výrobu sektu

Přídavek těchto kvasinek se doporučuje, mají-li být prokvašeny kvasy, u nichž se kvašení zastavilo nebo ovocné suroviny se zvlášť vysokým obsahem cukru. Díky jejich přizpůsobení pro přípravu sektu jsou již adaptovány na obsažený alkohol i surovinu bohatou na cukr a mohou zachránit mnoho kvasů prokvašených jen na půl. Obecně se přidává 20 g kvasinek na 100 l ovocného rmutu. Mezi kvasinky pro výrobu sektu se řadí *Saccharomyces bayanus*.

### Křísotvorné kvasinky

Kvasinky, které způsobují velké škody na již prokvašených kvasech. Křísotvorné kvasinky neprodukují žádný alkohol. Zcela naopak: prodýchávají alkohol z kvasu a tvoří nepříjemné aromatické látky, které přecházejí do destilátu: vyšší alkoholy jako propanol a butanol. Tyto kvasinky potřebují k životu kyslík, proto je třeba prokvašené kvasy neprodyšně uzavřít. Mezi křísotvorné kvasinky se řadí např. *Candida*, *Pichia* a *Hansenula* [42, 55].

Kvasinky se v ovocném rmutu dělí, přičemž teplotní rozdíl by neměl překročit 5 °C. Při doporučené teplotě kvašení mezi 14 až 18 °C je ovocný rmut prokvašen za 4 až 6 týdnů. Příznivý vliv na průběh kvašení má nepřímo také **oxid uhličitý**, uvolňovaný kvašením. Jeho unikáním se kvas promíchává, vyrovnává se koncentrace, dochází k pohybu kvasinek a tím i k jejich lepšímu styku s cukrem a živinami. Důležité také je, aby vrstva oxidu uhličitého zůstala nad povrchem i po kvašení, neboť chrání kvas před zkázou. Je široce rozšířený zvyk zamíchat kvasící kvas při bouřlivém kvašení, aby se kvasinky díky vnesenému **kyslíku** ještě víc podnítily k dělení. Od toho je třeba spíše odrazovat, neboť je do kvasu vnášen kyslík stejně jako divoké kvasinky a bakterie, a nebezpečí chybného kvašení se zvyšuje. **Alkohol**, vytvářený kvasinkami, brzdí rozvoj různých mikroorganismů, jež nepříznivě ovlivňují kvas, proto je rychlý začátek kvašení velmi důležitý. Od určité koncentrace už není pro pravé kvasinky snesitelný ani alkohol. Činnost kvasinek ustává při koncentraci ethanolu mezi 14 až 15 % obj. Na povrchu se v průběhu fermentace tvoří tzv. **matolinový koláč (deka)** obsahující zbytky po kvašení. Vytváří se v důsledku vynášení pevných částic na povrch pomocí oxidu uhličitého. Deky se stýká se vzduchem a umožňuje rozvoj nežádoucích aerobních organismů. Na druhou stranu chrání kvasící šťávu před možnou kontaminací a zabraňuje přístupu vzduchu. Propadávání deky do vykvašené šťávy je znakem zralosti kvasu a v této fázi je nutno ihned destilovat, jinak by mohlo dojít k nežádoucímu octovému kvašení. Deky se ale musí ve vhodný čas odstranit, jinak se propadne pod hladinu a už k ní není přístup. Umožní se tak škodlivým mikroorganismům,

aby začal vznik hnilobných procesů a zhoršovala se kvalita kvasu. Při obsahu 3-4 % cukrů (tj. 8-14 % ethanolu) je prokvašená zápara vhodná k destilaci [ 28, 29, 38, 51].

### 5.2.2 Bakterie

Struktura jejich buněk je mnohem jednodušší než u eukaryotních buněk. Obsahují např. DNA jen v jednom kruhovém chromosomu, také postrádají buněčné organely charakteristické pro eukaryotní buňky, jako jsou mitochondrie, endoplasmatické retikulum, Golgiho aparát a lysozomy. V ovocných pálenicích se jakou zhouba ovocných kvasů vyskytují především bakterie octového, mléčného, máselného a hnilobného kvašení. Růst bakterií v kvasu je vždy spojen se ztrátou alkoholu a tvorbou chybného aroma [42, 54].

#### Octové bakterie

Jsou přítomny na ovoci a mnoha rostlinách. Při výrobě lihu škodí přeměnou ethanolu na kyselinu octovou. Některé druhy rodu *Acetobacter* způsobují hnití jablek a hrušek. Patří mezi obávané kontaminanty hlavně ve fázi dokvašování. Jelikož netvoří spory, ničí se snadno vyšší teplotou. Mezi octové bakterie se řadí např. *Acetobacter ascendens*, *Acetobacter suboxydans* a *Acetobacter pasteurianum* [55, 56, 57].

#### Bakterie mléčného kvašení

Mléčné bakterie rodu *Leuconostoc* zkvašují sacharidy na kyselinu mléčnou, CO<sub>2</sub> a ethanol. Nejvíce druhů využívá cukr, mohou jim však jako zdroje výživy posloužit také jiné sloučeniny, jako kyselina vinná. Mezi bakterie mléčného kvašení se řadí např. *Lactobacillus delbrüeckii* a *Lactobacillus acid lactic* [14, 57].

#### Máselné bakterie

Tyto bakterie mohou žít jen při úplném vyloučení kyslíku (optimální pH 7–8,5). Máselné bakterie rodu *Clostridium* zkvašují cukry na kyselinu máselnou a další velmi nepříjemně vonící sloučeniny. Tvoří velmi rezistentní spory. Mezi máselné bakterie se zahrnuje např. *Clostridium butyricum* a *Clostridium aurantibutyricum* [56, 57].

#### Hnilobné bakterie

Hnilobné bakterie se účastní rozkladu proteinů a jiných dusíkatých látek. Na výtěžnost alkoholu nemají velký vliv, protože se v kvasu vyskytují jen ojediněle. Mezi hnilobné bakterie se řadí např. *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* a *Serratia marcescens* [45].

### 5.2.3 Plísně

Jako plísně označujeme mikroskopické vláknité eukaryotní mikroorganismy náležící mezi houby (*Fungi*). Plísně se nejčastěji vyskytují jen v ovocných rmutech, které kvasí velmi dlouho nebo dokonce vůbec nekvasí. Jinak proti plísním účinně působí vznikající oxid uhličitý. Napadení plísněmi je nejvíce provázeno nepříjemnými změnami aroma a pachem plísně, čímž je kvas nepoužitelný. Problematické je použití plísněmi napadené ovocné suroviny. To se projevuje nejčastěji u mirabelek a třešní, kde již ve skladovacích přepravkách rychle vznikají plesnivá místa velikosti pěsti. Takové podíly se musí odstranit, aby se předešlo pozdějšímu pachu plísně v destilátu. Také skladování hotového destilátu v dřevěných sudech napadených plísní vede k chybnému, zatuchle houbovému aroma. Z plísní pravých vyskytujících se na ovoci nebo ovocných břečkách patří rody *Mucor* a *Rhizopus*. Zelenošedé povlaky na starých kvasech tvoří plíseň štětičková, *Penicillium* [14, 42].

## 6 DESTILACE

Destilace je separační pochod, který odděluje kapalné složky z jejich směsí na základě rozdílných bodů varu (Tab. 2). Kapalná směs se zahřívá k varu, páry se odvádějí a odděleně kondenzují. V párách je větší koncentrace těkavějších složek než ve vroucí kapalině. Kondenzací par tudíž získáme kapalinu o vyšší koncentraci těkavých složek a v původní surovině se naopak zvýší koncentrace méně těkavých látek, které přecházely do par menší měrou. Destilací se alkohol nevyrábí, ale destilační zařízení připraví jeho vyšší koncentraci s odpovídajícími chuťovými a aromatickými vlastnostmi [28, 58].

Tab. 2. Vlastnosti hlavních komponent přítomných během pálení ovocných destilátů [59].

Složka	Teplota [°C]	Tenze par [Pa]	Bod varu [°C]
Methanol	20	12800	65
Ethanol	20	5950	78,3
Voda	20	2330	100

Když se zahřívá směs ethanol - voda, směs nezačne vřít jako čistý ethanol při 78,3 °C, nýbrž teprve při vyšší teplotě. Směs má, jako čistá kapalina, vlastní konstantní bod varu, který leží mezi 78,15 °C a 100 °C a závisí na obsahu vody a alkoholu. Bod varu 78,15 °C vykazuje směs alkohol - voda při svém azeotropickém složení. Jeden rozdíl ve srovnání chování čistých kapalin a směsi ethanolu a vody přece existuje: obsah alkoholu není zpravidla v páře stejný jako ve vroucí kapalině (směs ethanol - voda). Níže vroucí ethanol se v párách obohacuje, to znamená, že také pára je směsí obou látek. Přesně tento efekt využíváme při destilaci: je-li pára opět ochlazena, má kondenzát (destilát) vyšší obsah alkoholu, než byla jeho koncentrace původně ve vařáku. To funguje až do 97,2 % obj., potom je obsah ethanolu v párách stejný jako v kapalině, to znamená, že další destilací je oddělení ethanolu od vody nemožné. Tento bod nazýváme **azeotropický bod** [25, 28].

Vedle alkoholu (ethanolu) a vody obsahuje ovocný kvas mnoho dalších látek. Rozdělují se na těkavé a netěkavé sloučeniny, přičemž **netěkavé látky** – jako glycerin, kyselina jablečná, bílkoviny a barviva nemají na destilát žádný vliv, neboť při teplotách, které při destilaci panují, nepřecházejí do parního stavu, jak napovídá jejich jméno. Likvidují se jako odpad. **Těkavé látky** naproti tomu z kvasu během destilace unikají, žádoucí stejně jako nežádoucí. Pro kvalitu jsou určující především ethanol a typické aromatické látky ovocného destilátu. Nežádoucí jsou naproti tomu jedovaté a kvalitu snižující látky jako



methanol, octan ethylnatý, acetaldehyd, mastné kyseliny. Správnou destilační technikou lze negativní látky oddělit jako úkap a dokap a **obsah požadovaných látek** upravit především v průkapu (jádře) [42].

## 6.1 Destilační zařízení

Rozdílnost bodu varu jednotlivých složek obsažených v kvasu, jejich žádoucí přítomnost, zvýraznění nebo potlačení v hotovém destilátu jsou odedávna předmětem zájmu konstruktérů destilačních zařízení. S rozvojem analytické a fyzikální chemie a dalších oblastí poznání, technologických, konstrukčních znalostí se posouvaly možnosti destilace. Budeme-li od destilačních zařízení vedle kvalitního nápoje na výstupu vyžadovat dále co nejlepší energetickou účinnost, výtěžnost, snadnou údržbu, šetrnost k životnímu prostředí, co nejméně zdraví škodlivých látek při zachování všech chuťových a aromatických, pochopíme, proč je tolik výrobců a různých konstrukčních řešení v této oblasti [28].

### Destilační kotel

Dříve byl destilační kotel vytápěn dřevem, přímým ohřevem. K provozování takového přístroje náležela citlivost a postřeh, neboť kvas se snadno připaloval a do destilátu tak přecházely nepříjemné, pálivé látky. Dnes se destilační kotle zahřívají nepřímo na vodní lázni nebo parou. Tím je umožněna jemná regulace a nebezpečí přehřátí kvasu a s tím spojené vady destilátu jsou hodně sníženy. Zabudováním míchadel je kvas rovnoměrně rozdělován a zahříván, což je smysluplné především při zpracování hustých kvasů z jádřovin. Vodní lázeň musí být v každém případě vybavena přetlakovým ventilem a vodoznakem. Mezi kotlem a zesilovacími patry je obvykle přepěňovací patro s vhodným zpětným odvodem kvasu, které zabraňuje vysoce pěnivým částicím kvasu proniknout na zesilovací patra. Do destilačního kotle se nalévá kvas otvorem, který je na jeho horní části. Kotle, které nemají plnicí otvor, se naplňují po sejmutí klobouku, který je jinak na kotlíku pevně a neprodyšně nasazen. Materiálem pro výrobu destilačních kotlů a zesilovacích zařízení je na základě dobré tepelné vodivosti a pro své katalytické vlastnosti měď [36, 38, 42].

### Klobouk

Destilační klobouk je umístěn přímo nad středem kotle. Klobouk má zvlášť důležitou úlohu – funguje jako předchladič. Vzhledem k poměrně velkému povrchu a dobré tepelné vodivosti materiálu (měď) se páry na povrchu částečně ochlazují. Na vnitřní straně

klobouku kondenzují nejprve látky, které mají vyšší bod varu – voda a vyšší alkoholy. Tyto látky s bodem varu vyšším než ethanol se po kondenzaci částečně vracejí do kotle. V případě pěnících kvasů se použije studený hadr, který se položí na klobouk, pěna změní své fyzikálně - chemické vlastnosti a poklesne. Klobouk ústí do přestupní trubky.

### **Přestupní trubka - přestupník**

Přestupní trubka spojuje klobouk destilačního kotle s chladičem a musí směřovat vzhůru. I zde probíhá ochlazování. Voda a přiboudliny kondenzují a stékají po vnitřní straně trubky zpět do klobouku a z něj do vařáku.

### **Chladič a předloha**

Chladič má za úkol zkondenzovat páru vycházející z vařáku (přes klobouk a přestupník). Musí být zkonstruován tak, aby došlo k úplné kondenzaci par a k potřebnému ochlazení kondenzátu. Destilát musí vytékat chladný. V případě špatného chlazení vytéká teplý kondenzát a dochází tak ke ztrátám na alkoholu a aromatických složkách destilátu [38].

### **Teplotní čidlo**

Ke kontrole průběhu destilace se mohou na různých místech destilačního zařízení zabudovat teplotní čidla. Účelná je kontrola teploty kvasu v destilačním kotli a měření teploty destilátu na jednotlivých patrech [42].



Obr. 10. Destilační kotel, klobouk, teplotní čidlo, přestupní trubka a chladič.

## 6.2 Destilace kvasu a rektifikace

K nejdůležitějším a nejznámějším postupům tepelného dělení kapalných směsí patří destilace a rektifikace. Většina destilátů se v periodicky pracujících přístrojích získává tedy dvojitým pálením. V prvním stupni dochází k vydestilování veškerého ethanolu z kvasu. Tento destilát se podrobuje druhé destilaci, kde dochází k frakcionaci jednotlivých složek, zesílení lihovitosti a získání produktu požadovaných sensorických vlastností [29, 60].

### 6.2.1 Destilace kvasu (první destilace)

Dochází k napuštění vypláchnutého surovinového (destilačního) kotle předehřátým čerstvým ovocným kvasem do uzavíratelného otvoru (napouštěcího), který je umístěn ve vrchní části kotle. Kotel se napustí kvasem do maximálně  $\frac{3}{4}$  jeho objemu, otvor se uzavře a za současného míchání se obsah zahřívá. Doba pálení ovocného kvasu v prvním surovinovém kotli o obsahu 300 litrů trvá průměrně 2 až 3 hodiny. Ohřívání ovocného kvasu se provádí pozvolna, aby se případně tvořící pěny ovocného kvasu nedostaly až do chladiče. Pro průběh první destilace je typické zahřátí na 80 °C a následné pomalejší zvyšování až na teplotu přibližně 120 °C. Destilace ovocného kvasu probíhá tak dlouho, dokud hodnota obsahu ethanolu neklesne na 2-3 % obj. Při těchto hodnotách se destilace zastavuje. Po první destilaci ovocného kvasu se získává tzv. **lutr**. Získaný destilát je pouze polotovar, u kterého se provádí druhá destilace nazývaná rektifikace.

### 6.2.2 Rektifikace – přepalování (druhá destilace)

Cílem druhé destilace lutru je jeho zesílení na požadovanou lihovitost a hlavně jeho vyčištění od cizích a nežádoucích složek pocházejících z fermentace ovocných kvasů. Tato destilace se provádí ve druhém kotli, je to tzv. kotel rektifikační. Doba druhé destilace má být co nejdelší, pomalá. U kotle s obsahem 300 litrů, trvá druhá destilace asi 3 až 3,5 hodiny. Čím pomaleji rektifikace probíhá, tím se dají od sebe lépe oddělit jednotlivé složky destilátu. Získaný destilát postupně odděluje 3 frakce – **úkap, jádro a dokap**, což má významný vliv na jakost slivovice nebo jiného ovocného destilátu [29, 61].

### 6.3 Frakce destilace

Umění destilace spočívá především v čistém oddělení jádra od úkapu a dokapu. Přejde-li se na jádro příliš brzy nebo na dokap příliš pozdě, budou mít hotové ovocné destiláty výrazné vonné a chuťové vady. Úkap a dokap se odstraňují do zvláštní jímky a likvidují [42, 45].

#### **Lutr**

Destilát s obsahem ethanolu 20–30 % obj. Jedná se o polotovar nevhodný ke konzumaci, obsahující mimo vody hlavně: ethylalkohol, methylalkohol, kyanovodík, aromatické látky, estery a vyšší alkoholy (přiboudliny) [29, 45].

#### **Úkap**

Obsahuje většinu látek těkavějších než ethanol (hlavně methanol, aldehydy, estery). Je to první podíl destilace, protože má nejnižší teplotu páry. Základem pro tvorbu úkapu jsou kontaminující mikroorganismy, které se do kvasu mohou dostat z nahnilého nebo jinak narušeného ovoce a produkují různými biochemickými pochody nežádoucí vedlejší produkty jako např. acetaldehyd, ethylacetát, butanol, aceton a další látky, které vedou k poškození sensorických vlastností destilátu. Proto je tak důležité včasné oddělení této frakce. Dříve než ucítíme nějakou vůni, poznáme jeho štiplavost v nose. Čichový vjem je nepříjemný a připomíná některá rozpouštědla, odlakovač nehtů nebo některá lepidla [25, 29, 37].

#### **Jádro**

Je frakcí, která obsahuje žádaný alkohol, tedy ethanol s ovocným aroma. Je-li kvas vysokoprocentní a čistý, tvoří jádro největší frakci. Koncentrace alkoholu je kolem 50 % obj. nebo i vyšší, podle toho, jaká byla koncentrace alkoholu v kvasu, v případě dvojí destilace pak podle toho, jaká byla koncentrace destilovaného lutru [25].

#### **Dokap**

Má vysoký obsah organických kyselin a vyšších alkoholů, které mají negativní vliv na produkt. Také pro tuto frakci je čichový a chuťový vjem typický: destilát nepříjemně páchne a chutná mdle ve srovnání s ovocným, aromatickým jádrem. Obsah alkoholu je již velmi nízký, okolo 20–30 % obj. [25, 29].

## 7 CHEMICKÉ SLOŽENÍ DESTILÁTŮ

Na složení ovocných destilátů se uplatňuje již surovina použitá k jejich výrobě. Nepochybný význam má dále vlastní technologické zpracování především kvasný proces a v konečné fázi i průběh a kontrola destilace. Mimo ethanol a vodu, které tvoří zásadní podíl pálenek se na aromatu a chuti účastní celá řada sloučenin především dalších nižších alifatických alkoholů (methanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, a další alkoholy). Z aromatických a heterocyklických alkoholů vznikají při kvašení benzylalkohol a 2-fenylethanol, z heterocyklických alkoholů pak furfurylalkohol. Vesměs se jedná o alkoholy vznikající jako vedlejší produkty alkoholového kvašení. Všechny se vyznačují výraznými sensorickými vlastnostmi. Z vícemocných alkoholů se v ovocných destilátech vyskytuje 2,3-butandiol a glycerol. Další skupinu, která podstatným způsobem ovlivňuje sensorické vlastnosti ovocných destilátů, tvoří aldehydy. Ty pocházejí jednak ze zpracovávané suroviny a jednak vznikají během kvasného procesu i během destilace. Mezi hlavní zástupce této skupiny chemických látek patří acetaldehyd, benzaldehyd a furankarbaldehyd. V ovocných destilátech jsou dále zastoupeny těkavé alifatické kyseliny především kyselina octová, dále kyselina mravenčí, máselná a z vyšších kyselin pak kyselina kapronová, kaprylová a laurová. Typickým zástupcem v destilátech z jaderného ovoce je kyanovodík. Z dalších složek ovocné destiláty obsahují estery, aminy, amidy a další sensoricky významné látky, které jsou přítomny ve zpracované surovině (terpeny, acetyly atd.) [26].

### 7.1 Sloučeniny ovlivňující charakter destilátů

#### **Methanol**

Vedle ethanolu a vody je z kvantitativního hlediska důležitou látkou methanol. Methanol je jedovatý a proto v destilátu nežádoucí. Obsah methanolu se vždy uvádí v závislosti na vytvořeném ethanolu (v g/l čistého alkoholu), proto jsou ovocné destiláty z ovoce s vysokým obsahem pektinu a malým obsahem cukru např. jeřabiny, obzvláště ohroženy, že překročí hraniční hodnotu. Pro pálenice je jeho oddělení destilací stěží možné, neboť methanol se při destilaci chová velmi podobně jako ethanol. U kritických produktů se proto doporučuje nechat udělat analýzu methanolu dříve, než se dají do oběhu [42].

## Ethanol

Je bezbarvá tekutina s příjemnou nasládlou vůní a pálivou chutí. Podstatným způsobem ovlivňuje energetickou hodnotu nápojů (1 g ethanolu má energetickou hodnotu 29 kJ tj. 7 kcal). Množství ethanolu závisí především na množství zkvasitelných cukrů v surovině, druhu a kmeni použitých kvasinek, teplotě při fermentaci a na dalších faktorech [26, 42].

## Ethylkarbamát

Ethylkarbamát, také nazývaný uretan, se nachází především v malém množství v destilátech z peckovin. Protože ethylkarbamát je také rakovinotvorný, byly v Německu námitky proti ovocným destilátům, které obsahují více než 0,8 mg ethylkarbamátu/l. Předstupněm ethylkarbamátu je kyselina kyanovodíková a její soli. Ty pocházejí především z pecek peckového ovoce a při zpracování přecházejí do destilátu. Za účasti jiných látek destilátu, např. alkoholu a benzaldehydu, je kyselina kyanovodíková přeměna při destilaci nebo působením světla při skladování na ethylkarbamát. Při výrobě destilátů z peckovin se musí učinit taková opatření, aby se udržel co nejnižší obsah ethylkarbamátu. Při rmutování se proto nemají pokud možno rozbít pecky, nebo mají být zcela odstraněny. Oddělením kyseliny kyanovodíkové při destilaci se dá obsah ethylkarbamátu redukovat a také je třeba destiláty při skladování chránit před světlem [42].

## Aromatické látky

Ovocné destiláty obsahují vedle ethanolu několik set dalších těkavých látek. Částečně se vyskytují jen ve velmi malé koncentraci (pod 0,01mg/100ml), ale teprve spolupůsobením všech komponent způsobuje typický, nezaměnitelný charakter každého ovocného destilátu.

Aroma ovocných destilátů lze rozdělit na základě doby jejich vzniku:

- sloučeniny, které pocházejí z ovoce a nezměněné se vyskytují v destilátu jako terpeny a další,
- sloučeniny, které se vytvářejí během kvašení a skladování kvasu látkovou výměnou kvasinek a dalšími enzymatickými procesy, např. acetaldehyd, alkoholy, estery a kyseliny. Tato skupina činí hlavní podíl aroma ovocných destilátů. Jelikož tyto látky pocházejí z metabolismu kvasinek, jsou také v jiných kvašených nápojích. Pro jejich tvorbu není rozhodující surovina, nýbrž rasa kvasinek,
- sloučeniny, které vznikají během destilace a skladování destilátu, např. ethylkarbamát, estery, acetaly.

Chemicky se řadí aromatické látky k alkoholům, aldehydům, esterům a kyselinám. Vedle alkoholu jsou pro aroma ovocných destilátů důležité vyšší alkoholy, spíše známé pod označením „fusel“ nebo „přiboudlina“. V širším smyslu patří do skupiny alkoholů také **terpeny**. Přitom jde o vesměs velmi příjemné, hlavně květinově vonící látky. Jsou přítomné už v ovoci a přecházejí nezměněné do destilátu. Ovšem jen ve velmi malých množstvích, proto je jejich význam pro aroma ovocných destilátů sporný. Pod pojmem **estery** je sloučena velká skupina sloučenin s podobnou chemickou strukturou a velmi rozdílnými aromatickými vlastnostmi. Lehce těkavé estery jsou typickou součástí úkapu, např. octan ethylnatý, naproti tomu výše vroucí estery se nacházejí ve významnějších koncentracích teprve v dokapu. Částečně se jedná o pichlavě vonící látky, částečně také o velmi příjemně vonící ovocné estery. Těžko těkavé estery mají spíše méně ovocné aroma, které při vyšších koncentracích může být velmi nepříjemné. Daleko známější jako typická součást úkapů je **acetaldehyd**. Ten vzniká metabolismem kvasničných buněk. V podstatně menším množství se vyskytují ještě jiné aldehydy, např. pro třešňový destilát tak typický **benzaldehyd**, zodpovědný za hořkomandlové aroma. **Akrolein** je příčinou vad lihovin kvůli svému dráždivému pachu. Během kvašení může díky bakteriím, které se do kvasu dostaly především z infikovaného a špinavého ovoce, vznikat hydroxypropanol, který při destilaci zreaguje na akrolein. **Kyselina octová** se může v kvalitativně hodnotném destilátu vyskytovat jen ve stopách. Z vyššího obsahu v destilátu lze usuzovat na bakteriemi infikovaný kvas. **Vyšší mastné kyseliny** jsou naproti tomu zodpovědné za typické aroma dokapu a jejich obsah se na konci destilace silně zvyšuje [13, 42].

## 8 VADY DESTILÁTŮ

Vady ovocných destilátů mohou spočívat jednak v jejich zbarvení, nebo v jejich nevíтанé chuti, případně zápachu.

### 8.1 Příčiny většiny vad destilátů

- špatný výběr suroviny (nedozrálá, nahnílá, napadená plísní, znečištěná),
- chybná příprava záparu,
- nevhodné kvasné nádoby a špatně vedená fermentace,
- chyby při destilaci.

### 8.2 Typy vad destilátů a možnosti jejich odstranění

Při správném pracovním postupu se lze většině chyb vyvarovat předem. Zjistíme-li již špatně připravenou záparu nebo kvas, provedeme destilaci odděleně a nemícháme ji s dobrou záparou. Mezi možné vady destilátů se zahrnuje:

- octová příchut' – při špatně vedené fermentaci s přístupem vzduchu nebo při dlouhém skladování záparu se může tvořit octová kyselina. Tím se sníží obsah alkoholu a destilát získá kyselou chuť. Octovou kyselinu lze chemicky i sensoricky nejlépe neutralizovat uhličitánem vápenatým. Přídavkem asi 200 g na 100 l destilátu nebo lutru,
- příchut' po akroleinu – z glycerolu, který se při lihovém kvašení tvoří v kvasu jako vedlejší produkt, mohou různé bakterie vytvořit mimořádně silně páchnoucí látku – akrolein. Její bod varu je 44 °C a při destilaci přechází ihned do páry. Destilát je potom nepoživatelný, má ostře pálivou chuť. Dráždí sliznici natolik, že se destilace musí většinou přerušit. Bakteriální infekce pochází z nečisté, zeminou kontaminované suroviny. Před destilací se akroleinový pach nedá zpravidla zjistit, uvolňuje se až při ní,
- ostatní vady chuti – nejčastěji se odstraňují přídavkem aktivního uhlí (karbolin), přičemž se přidává 100 g uhlí na 100 litrů destilátu. Za občasného promíchání se nechá působit asi 2 dny a provede se filtrace,



- zákaly vzniklé ředěním nebo mícháním lihovin – nejčastěji jsou to bílé zákaly, které vznikají při ředění lihovin tvrdou vodou. Z toho důvodu je doporučováno používat vodu o maximálním obsahu 5 mg solí v litru.

Zákaly také mohou vznikat v důsledku:

- ředění vysokoprocentních destilátů díky sražení éterických olejů,
- ze škrobnatých surovin může vypadávat sraženina dextrinů,
- vyloučení přiboudliny z destilátu, kde byl špatně odstaven dokap,
- vyšší množství železa ve zředovací vodě může způsobit vznik octanu železitého – žlutý zákal,
- reakce železa a tríslovin ze skladovacích sudů může způsobit černomodré zákaly.

Odstranění zákalů je možné filtrací, kterou je možno kombinovat s čiřením. Pro čiření destilátů se zákalovými vadami je přitom možno použít zejména tyto prostředky:

- želatina – nechá se rozmíchat v teplé vodě při 60 °C, používá se 10–30 g želatiny na 100 litrů destilátu,
- mléko – používá se asi 0,5 litrů na 100 litrů destilátu (je to jeden z nejtradičnějších způsobů), nebo dnes je to spíše aplikace kaseinu v dávce 10–20 g na 100 litrů destilátu,
- aktivní uhlí – je to sice účinný prostředek, ale zároveň způsobuje ztrátu aromatu destilátu, proto se pro tyto účely využívá omezeně,
- vyzina – je to starý a tradiční způsob čiření destilátu. I v dnešní době se jeví jako velmi efektivní, nicméně dražší způsob. Vyzina je usušená tkáň plynového měchýře jeseterovitých ryb. Aplikuje se jako prášek v dávkách 3–5g na 100 litrů destilátu [29, 38].

## 9 METODY STANOVENÍ METHANOLU

Nejpoužívanější instrumentální analytickou metodou pro stanovení methanolu v alkoholických nápojích je plynová chromatografie s plameno-ionizační detekcí. Mezi další metody stanovení se řadí vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), plynová chromatografie (GC) s využitím různých typů detektorů, cyklická voltametrie (CV), duální systém plynové chromatografie, různé extrakční metody, které zahrnují extrakce pevnou fází (SPE) nebo mikroextrakce pevnou fází (SPME) [54, 62, 63].

### 9.1 Chromatografie

Chromatografie je jedna z nejvýznamnějších analytických separačních metod. Umožňuje dělení, identifikaci a stanovení velkého počtu organických i anorganických látek. Základy kapalinové kolonové chromatografie položil na počátku tohoto století Cvet, botanik ruskoitalského původu, který na sloupci sorbentu úspěšně rozdělil listová barviva. V dnešních chromatografických technikách zauímají metody moderní kolonové chromatografie přední místo. Umožňují analyzovat kromě řady anorganických látek téměř všechny organické látky obsažené v nejrůznějších přírodních i technických směsích v širokém koncentračním rozmezí [64].

#### 9.1.1 Plynová chromatografie (GC)

Metoda plynové chromatografie je vhodná pro analýzu těkavých látek, jež je možno převést do plynného stavu. Pro nutnost přeměny analytů v plyny můžeme separovat takové látky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost menší než 1000. Obecně může být plynová chromatografie použita k separaci plynů, většiny nedisociovatelných kapalin a pevných organických molekul a mnoha organokovových látek. Není použitelná pro separaci makromolekul, organických a anorganických solí. Častým postupem je chemická změna analytů nevyhovujících vlastností na deriváty, které mohou být v analýze plynovou chromatografií použitelné [65, 66].

##### 9.1.1.1 Popis zařízení plynového chromatografu

Vzorek se dávkuje do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou. Proto se mobilní fáze nazývá nosný plyn. Aby vzorek mohl být transportován, musí se ihned přeměnit na plyn.

V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek [65].

Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující vodík, dusík, helium nebo argon. Druh plynu je určen jeho úkolem unášet vzorek kolonou a potřebou invertního chování vůči jeho složkám. Proto nemá přímý vliv na separaci. Při volbě plynu také hraje roli potřeba netoxicity, bezpečnosti práce a nižší ceny. Hojně využívaný vodík má zásadní nevýhodu – je hořlavý a explozivní, případně schopný hydrogenace některých látek, které pak detekujeme navíc. Volba nosného plynu je často určena druhem kolony a detektoru.

Čistící zařízení zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu. Zbavuje nosný plyn nežádoucích stop ostatních plynů. Zejména odstraňuje stopy reaktivního kyslíku, který nevratně poškozuje stacionární fázi v koloně.

Regulační systém zajišťuje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu. Elektronickou regulací lze docílit stanoveného průtoku i při změnách teploty během separace.

Dávkovač slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Technika dávkování musí zajistit odpaření vzorku v co nekratším čase. Roztoky dávkujeme injekčními stříkačkami (0,1–10 µl) přes pryžové septum [65, 66].

Kolona je část chromatografu, ve které je umístěna stacionární fáze. V koloně nastává separace složek. V plynové chromatografii se používají náplňové nebo kapilární separační kolony:

- kolony náplňové – jsou tvořeny do spirály stočenou kovovou nebo skleněnou trubicí o vnitřním průměru 2–4 mm a délce 2–6 m, naplněnou částicemi stacionární fáze o průměru 30–350 µm. Příklady náplní adsorbentů pro adsorpční chromatografii jsou silikagel, grafitizované saze a alumina (oxid hlinitý),
- kolony kapilární – jsou nejčastěji vyrobeny z křemenné kapiláry o vnitřním průměru 50–350 µm, pro zvýšení mechanické odolnosti potažené vrstvou polymeru (polyimidu). Na vnitřní stěně kapiláry je nanášena netěkavá kapalina sloužící jako vlastní stacionární fáze. Kapilární kolony, ve srovnání s náplňovými, dosahují velmi vysokých separačních účinností několika set tisíc teoretických pater při

celkové délce až 100 m, jsou však zatížitelné pouze velmi malým množstvím dávkovaného vzorku.

Detektor slouží k detekci látek v nosném plynu. Za přítomnosti analytu vysílá signál, jenž je zaznamenáván v závislosti na čase. Mezi typy používaných detektorů se řadí:

- tepelně-vodivostní detektor (TCD) – je typem univerzálního detektoru. Nosný plyn proudí přes vlákno žhavené stálým elektrickým proudem a ochlazuje je na určitou teplotu. Přítomnost složky změní tepelnou vodivost prostředí kolem žhavého vlákna, a tím jeho teplotu a elektrický odpor. Obvykle se pracuje se dvěma žhavenými vlákny. Přes jedno proudí čistý nosný plyn, přes druhé proudí plyn z kolony. Jejich elektrické odpory se porovnávají ve Wheatstonově můstku. Přítomnost složky se projeví jeho rozladěním. Hlavní předností tepelně vodivostního detektoru je jeho univerzálnost a velmi široký lineární dynamický rozsah, nevýhodou je relativně nízká citlivost,
- plamenový ionizační detektor (FID) – je tvořen miniaturním hořákem, ve kterém je spalována směs vodíku a vzduchu a do něhož je přiveden i výstup z chromatografické kolony. Protí ústí hořáku je umístěna kovová elektroda válcového tvaru, na níž je ze zdroje vloženo napětí asi 300 V, vlastní hořák je uzemněn. Pokud do plamene přichází pouze nosný plyn, je množství nabitých částic vznikajících při hoření zanedbatelné, mezi hořákem a elektrodou prochází velmi nízký zbytkový proud  $10^{-9}$ – $10^{-12}$  A. Pokud je v plameni spálená látka vystupující z chromatografické kolony, počet iontů a elektronů v prostoru detektoru vzroste, vzroste elektrická vodivost prostředí a zvýší se hodnota procházejícího proudu. Velikost signálu detektoru závisí na typu a koncentraci detekované látky. Ve srovnání s tepelně vodivostním detektorem je plamenově ionizační detektor podstatně citlivější při zachování velmi širokého lineárního dynamického rozsahu. Zjevnou nevýhodou je nutnost použití zdrojů vodíku a vzduchu pro zajištění funkce detektoru [66],
- plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID) - obsahuje v účinném prostoru sůl alkalického kovu. Ionty alkalického kovu se teplem kyslíkovodíkového plamene dostávají do plynné fáze. Tady velmi ochotně reagují s heteroatomy organických látek, zejména s fosforem a dusíkem. Proto organické sloučeniny s těmito prvky dávají výrazně větší signál,

- bezplamenný detektor s alkalickým kovem (bezplamenný TID) – na povrchu soli alkalického kovu se působením vysoké teploty spaluje vodík a přítomná energie stačí na reakce s fragmenty obsahující fosfor a dusík. Tento detektor je možno použít na detekci opiátů, látek používaných k dopingu apod.,
- hmotnostní spektrometr (MS) – zde jsou ionty analyzovány kvadrupólovým analyzátozem. Nepostradatelné je spojení GC-MS tam, kde se provádějí identifikace neznámých složek směsí. Pro každou složku lze získat její hmotnostní spektrum a identifikovat ji porovnáním jejího spektra,
- atomový emisní detektor (AED) – je příkladem detektoru, který využívá emise záření vzorkem. V AED vstupuje plyn z kolony do plazmové hlavice, atomizuje se a emituje záření. To se po rozkladu mřížkou analyzuje diodovým polem a určí se obsahy prvků.

Vyhodnocovací zařízení zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku a provádí její vyhodnocení.

Termostat zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, aby byl vzorek udržen v plynném stavu. Teplota kolony se může programově měnit, je-li přítomno široké spektrum složek s různými teplotami varu, separace by byla časově náročná [65, 66].

### **Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID)**

Vodnar a kolektiv provedli analýzu hlavních těkavých složek (methanol, acetaldehyd, ethylacetát, 1-propanol, 2-butanol, aktivní amyl alkohol, 1-butanol). Zkoumané vzorky byly injekčně aplikovány přímo do kolony plynového chromatografu GC 6850A s plamenově ionizačním detektorem (FID). Každý vzorek byl aplikován dvakrát. 1  $\mu$ l z každého vzorku byl zaveden do kapilární chromatografické kolony ZB-WAX plus (charakteristika: délka 60 m, průměr 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25  $\mu$ m). Stacionární fázi byl zesíťný polyethylenglykol vyroben společností Zebron. Teplotní program byl nastaven na počáteční teplotu 35 °C. Teplota vstřikovače byla 240 °C – automatické vstřikování. Jako nosný plyn bylo použito hélium a teplota detektoru (FID) byla nastavena na 250 °C. Celková doba analýzy byla 30,63 min. Pro kvantitativní vyhodnocení byla použita metoda vnitřního standardu. Pentan-3-ol byl použit jako vnitřní standard látky. Roztok obsahující 0,1 ml pentan-3-olu byl přidán do 10 ml každého vzorku. Pro všechny těkavé látky bylo

provedeno kvantitativní vyhodnocení na základě automatického výpočtu – integrací plochy píku [62].

Winterová a kolektiv analyzovali těkavé složky jako acetaldehyd, ethylacetát, methanol a vyšší alkoholy (1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-methyl-1-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol) pomocí plynové chromatografie (nařízení Rady EHS č. 2870/2000), za použití detektoru FID a plynového chromatografu Hewlett Packard s dělicím injektorem (20:1). Teplota vstřikovače byla nastavena na 150 °C, teplota detektoru 250 °C. Byla použita kapilární kolona CP-WAX 57 CB (charakteristika: délka 50 m, šířka 0,32 mm a tloušťka vrstvy 0,2 μm). Teploty byly naprogramovány jako čtyři oblasti: od 40 °C na 17 min, pak se teplota zvýšila na 12 °C/min s konečnou 5 minutovou tepelnou vytrvalostí. Jako nosný plyn bylo použito hélium s průtokem 2,7 ml/min. Normy ze společností Fluka a Aldrich byly pomocí pro kvalitativní a kvantitativní kalibrace. Všechny stanovení byly provedeny podle metody vnitřního standardu. Pentan-3-ol byl použit jako vnitřní standard látky [63].

Orriols a kolektiv provedli rychlé stanovení hlavních těkavých látek v lihovinách pomocí plynového chromatografu GC 6890 (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) s plamenově ionizačním detektorem (FID) a děleným/neděleným vstřikovačem. Byla použita kapilární kolona CP-WAX-57 CB (charakteristika: délka 50 m, šířka 0,32 mm a tloušťka vrstvy 0,2 μm). Teplotní program byl nastaven na počáteční teplotu 40 °C po dobu 3 minut, pak se zvýšil na 6 °C/min, dále na 75 °C a 9 °C/min. do konečných 210 °C. Teplota vstřikovače byla nastavena na 220 °C, teplota detektoru na 240 °C. Jako nosný plyn byl použit vodík při tlaku 130 kPa. Známé množství norem z řešených plynových chromatografických analýz bylo pomůckou pro sestavení kalibračních grafů použitých pro výpočty a kvantifikace. 4-methyl-2-pentanol a 4-dekanol byly použity jako vnitřní standardy. 4-methyl-2-pentanol byl použit pro kvantifikaci hlavních těkavých látek v hroznovém destilátu (acetaldehyd, ethylacetát, 1,1-dimetoxyethan, methanol, 2-butanol, 1-propanol, amyl alkoholy, 2-methyl-1-propanol, 1-butanol, ethyllaktát a 1-hexanol). Zbytek sloučenin bylo stanoveno 4-dekanolem. Kalibrační křivky a všechny číselné údaje byly zhodnoceny vnitřní standardní metodou pomocí programu Chem-Station Rev. A. 10.02 (1757) Agilent Technologies. Tyto analyty byly identifikovány porovnáním retenčních časů k čistým standardům [67].

### **Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS)**

Savary a Nunez provedli stanovení methanolu a kyseliny octové v pektinu pomocí plynového chromatografu 5890 GC Series II. Plus s hmotnostním spektrometrem (MS) (Hewlett-Packard, San Fernando, CA) a použitím kapilární kolony (charakteristika: 25 ml x 0,25 mm x tloušťka 8 m). Součástí je i vstřikovací vložka. Všechny injekce byly aplikovány neděleným vstřikováním při 300 °C a teplota detektoru byla nastavena na 250 °C. Jako nosný plyn bylo použito hélium s průtokem 1 ml/min. Teplotní program byl nastaven na 40 °C (1,6 min.) do 250 °C (5 min.) při 50 °C a udržoval se na teplotě po dobu 5 minut. Byla zvolena ionizace nárazem elektronů 70 eV. Koncentrace methanolu byla stanovena na základě plochy píku [68].

### **9.1.2 Kapalinová chromatografie (LC)**

Princip a podstata separačních dějů uplatňujících se v kapalinové chromatografii se v zásadě neliší od chromatografie plynové. Hlavní rozdíly oproti plynové chromatografii spočívají v minimální kompresibilitě mobilní fáze, malém vlivu teploty na separaci a velmi významné aktivní úloze mobilní fáze. Kapalinová chromatografie zahrnuje všechny chromatografické způsoby separace, kdy je mobilní fáze kapalná. S ohledem na experimentální uspořádání hovoříme o kapalinové chromatografii v otevřeném systému (papírová a tenkovrstvá chromatografie) a v uzavřeném systému (zejména vysokoúčinná kapalinová chromatografie). Srovnáme-li kapalinovou a plynovou chromatografii z hlediska účinnosti, je v kapalinové chromatografii nižší příspěvek molekulární difuze složky, protože kapalina má o hodně vyšší viskozitu než plyn [64, 66].

#### **9.1.2.1 Popis zařízení kapalinového chromatografu**

Princip klasické kapalinové chromatografie spočívá v naplnění skleněné trubky o délce asi 0,5 m a průměru asi 2 cm, dole zakončené fritou a kohoutem, zrnitým sorbentem s velkým průměrem částic (např. oxidem hlinitým). Na horní vrstvu náplně dávkuje malé množství vzorku a pak přidáváme mobilní kapalnou fázi (eluent). Působením gravitační síly mobilní fáze postupuje kolonou, složky vzorku se od sebe separují a v různých částech opouštějí spodní část kolony [64].

Čerpadlo – kapalina se do kolony čerpá pístovými nebo membránovými čerpadly. Dobré čerpadlo docílí průtoku v rozsahu od mikrolitrů do desítek mililitrů za minutu s méně

než 1 % kolísáním průtoku při tlaku až 35 MPa. Materiál čerpadla (nerezová ocel, keramika, plast) nesmí být narušován mobilní fází a nesmí do ní uvolňovat žádné látky. Ventily řídící tok eluentu jsou často zhotoveny z pryže nebo safíru.

Směšovací zařízení – složení mobilní fáze může zůstat stálé (izokratická eluce) nebo se během separace mění (gradientová eluce). Naprogramované směšovací zařízení může s využitím zásobníků různých kapalin připravovat směs kapalin stálého složení nebo řídit změny ve složení výsledné mobilní fáze v průběhu separace.

Dávkovací zařízení – injekční zařízení může být ovládáno ručně i automaticky. Větší vzorek (řádově stovky  $\mu\text{l}$ ) může být dávkován, je-li použit slabý eluent. Za tohoto předpokladu se vzorek zachytí v hlavě kolony, zatímco eluent postupuje dále [65, 66].

Kolony – používáme pouze náplňové. Mnoho rozličných aplikací kapalinové chromatografie podmiňuje existencí velkého množství kolon různé délky, vnitřního průměru a náplně. Pro většinu rutinních analýz jsou kolony zhotoveny z nerezové oceli. Jako ochrana hlavní kolony jsou hojně používány předklony umístěné mezi čerpadlo a dávkovací zařízení nebo ochranné kolony umístěné mezi dávkovacím zařízením a analytickou kolonou.

Nastavení teploty – většina separací HPLC probíhá při laboratorní teplotě a nevyžaduje termostatování. Některé separace se významně zlepšují zvýšením teploty, což většina nových chromatografů umožňuje.

Detektory – detektory v HPLC by měly být selektivní pro analyty a málo citlivé na mobilní fáze. Typy detektorů používaných v kapalinové chromatografii:

- fotometrické detektory – patří k nejběžnějším detektorům. Měří absorbanci eluetu vycházejícího z kolony. Pro optimální citlivost detektoru musí být zajištěna dostatečná absorpční dráha průtočné kvyety, již prochází paprsek,
- refraktometrické detektory – měří rozdíl mezi indexem lomu eluátu a čisté mobilní fáze. Obsahuje-li eluát složku, objeví se výchylka. Tento detektor sice není příliš citlivý, ale je velmi univerzální,
- fluorescenční detektory – jsou založeny na principu fluorescence, tedy schopnosti látek absorbovat ultrafialové záření a pak vysílat záření o vyšší vlnové délce, která se měří fotonásobičem kolmo na směr vstupujícího zařízení,
- FTIR detektor – zpracovává infračervená spektra složek v mobilní fázi,



- elektrochemické detektory vodivostní a voltametrické – lze použít tam, kde jsou v roztocích obsaženy ionty respektive složky oxidovatelné nebo redukovatelné na polarizovatelné elektrodě,
- hmotnostní spektrometr – jako detektor je použitelný nejen v plynové, ale i v kapalinové chromatografii [64, 65, 66].

### **Kapalinová chromatografie se spektrofotometrickým detektorem**

Wrobel a kolektiv provedli stanovení methanolových nečistot v O,O-dimethyl-dithiofosforečné kyselině. K analýze byl použit vysoce účinný kapalinový chromatograf Hewlett-Packard 1050 a spektrofotometrické detektory prováděly měření při zvolených vlnových délkách. Byl použit program Chem-Station a Phenomenex Luna C18 (2) kolona (charakteristika: délka 5 m, šířka 250 mm a tloušťka vrstvy 4,6 mm) při pokojové teplotě [69].

#### **9.1.3 Cyklická voltametrie (CV)**

Cyklická voltametrie je metoda, při níž se na stacionární elektrodu v nemíchaném roztoku vkládá potenciál trojúhelníkového průběhu s rychlostí změny (rychlostí polarizace). Polarizační křivky mají tvar píku, a proud píku závisí na rychlosti časové změny potenciálu. V důsledku toho, že difúze je relativně pomalý transportní proces, při dostatečně vysoké rychlosti polarizace nestačí produkty elektrodové reakce zcela oddifundovat od elektrody a za vhodných podmínek je lze při opačném směru potenciálové změny detegovat [70].

#### **Cyklická voltametrie**

Richter a kolektiv provedli cyklické voltametrické měření pro stanovení methanolu a ethanolu v palivovém ethanolu na analyzátoru potenciostatu Autolab Type III (Metrohm Autolab B.V.) za použití argentchloridové elektrody. Z platiny a železa byly použity elektrody pracovní, referenční a pomocné. Výsledky pro stanovení methanolu a ethanolu byly porovnány s výsledky získanými pomocí plynové chromatografie [71].

## 10 CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo stanovit obsah methanolu ve vzorcích jablečného destilátu analýzou plynové chromatografie na přístroji Gas Chromatograph 7820A GC System (Agilent Technologies) s plamenovým ionizačním detektorem a tyto výsledky srovnat mezi analyzovanými vzorky jablečného destilátu.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 11 MATERIÁL A METODA PRO STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU VE VZORCÍCH DESTILÁTŮ

### 11.1 Analýza methanolu v jablečných destilátech za použití plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID)

#### 11.1.1 Materiál

Jako praktickou část své bakalářské práce jsem provedla analýzu 6 vzorků jablečných destilátů ročníku 2012, které byly odebrány během dvou destilací. Všech 6 vzorků bylo připraveno z odrůdy Jaderničky moravské, tedy jablek původu moravsko-valašského od pěstitele Josefa Veselého. Všechny vzorky pochází z jednoho kvasu, jehož vypálení proběhlo ve stejné pěstitelské pálenici stejným technologickým postupem. Pro porovnání obsahu methanolu byl proces kvašení pro druhou destilaci prodloužen o 14 dní.

#### První destilace

- provedena dne 3. 11. 2012
- doba kvašení jablečného kvasu: 41 dní

Tab. 3. Vzorky odebrané během první destilace.

<b>Vzorek A</b>	Lutr
<b>Vzorek B</b>	Úkap
<b>Vzorek C</b>	Jádro

#### Druhá destilace

- provedena dne 17. 11. 2012
- doba kvašení jablečného kvasu: 55 dní

Tab. 4. Vzorky odebrané během druhé destilace.

<b>Vzorek D</b>	Lutr
<b>Vzorek E</b>	Úkap
<b>Vzorek F</b>	Jádro

První destilace jablečného kvasu provedena dne 3. 11. 2012 probíhala procesem dvoustupňové destilace. Během tohoto procesu byl proveden odběr 3 vzorků (Tab. 3). První vzorek (vzorek A) tzv. **lutr** byl odebrán během první destilace.

Odběr druhého vzorku (vzorek B) tzv. **úkap** byl proveden při zahájení druhé destilace a třetí vzorek (vzorek C) tzv. **jádro** byl již hotový 50 % jablečný destilát určený pro konzumní účely. Vzorky D, E, F byly odebrány i destilovány stejným postupem jako tomu bylo u vzorků A, B a C, ale o 14 dní později (Tab. 4).

Odběr vzorků byl proveden do skleněných sterilních nádob o objemu 200 ml a tyto připravené vzorky byly uschovány v chladničce o teplotě 7 °C do zahájení jejich analýzy.

### 11.1.2 Chemikálie

- methanol

- čistota: p.a., 99,5%
- CAS: 67-56-1
- R-věty: R11, R23/24/25, R39/23/24/25
- S-věty: S1/2, S7, S16, S36/37, S45
- výrobce: Fisher Chemical

- ethanol

- čistota: p.a., 99,5 %
- CAS: 64-17-5
- R-věty: R11
- S-věty: S2, S7, S16
- výrobce: Penta

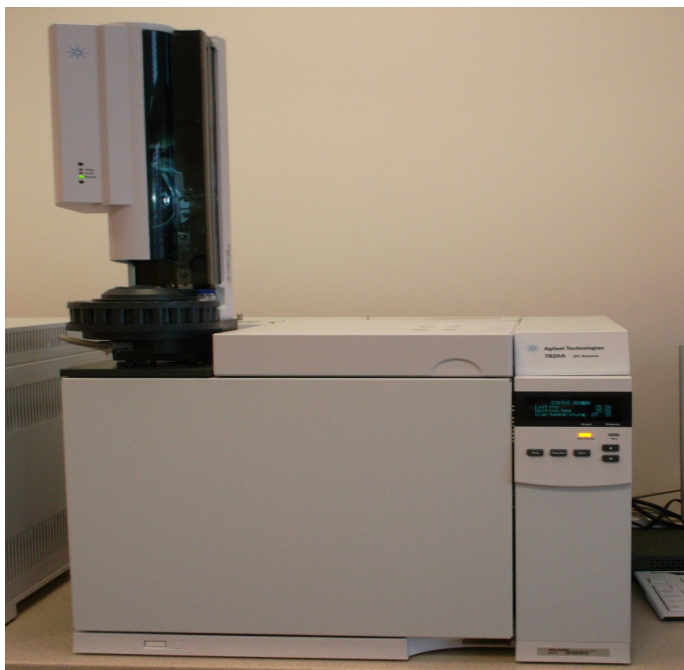
### 11.1.3 Laboratorní vybavení a přístroj

Laboratorní vybavení:

- vialky (světlá) pro GC-FID
- mikropipety
- pipety
- balónek na pipetování
- chladnička
- kádinky

Přístroj:

-experiment byl proveden s plynovým chromatogramem Gas Chromatograph 7820A GC System (Agilent Technologies) s plamenovým ionizačním detektorem (Obr. 11) a s volitelně nastavitelnými parametry použitého přístroje (Tab. 5).



Obr. 11. Přístroj GC 7820A.

Tab. 5. Zvolené parametry plynové chromatografie pro analýzu methanolu v jablečných destilátech.

<b>Zvolený přístroj</b>	GAS CHROMATOGRAPH 7820A GC System (Agilent Technologies)
<b>Kapilární kolona - rozměry</b>	0,25mm x 30m x 0,25μm
<b>Množství vzorku</b>	1 μl
<b>Teplota nástřiku</b>	250 °C
<b>Nosný plyn</b>	Helium
<b>Průtok nosného plynu</b>	2 ml/min
<b>Detektor</b>	plamenově ionizační detektor (FID)
<b>Teplota detektoru</b>	300 °C

Tab. 6. Teplotní program kolony ke stanovení methanolu.

Krok	Rychlost [°C/min]	Konečná teplota [°C]
Počáteční teplota		35
1	12	58
2	3	85
3	30	155
4	120	230

Při sestavě teplotního programu se počáteční teplota stanovila na 35 °C, poté se udržoval lineární růst teploty (Tab. 6). Využitím vhodného teplotního programu se může docílit vyššího rozlišení, citlivosti složek nebo kratší doby analýzy.

Pro datová vyhodnocení byl zvolen chromatografický software Agilent ChemStation, který obsahuje všechny parametry pro ovládání přístroje, získávání dat a jejich vyhodnocení, včetně integrace, kvantifikace a podávání zpráv.

#### 11.1.4 Příprava vzorků

Pro stanovení obsahu methanolu se z každého z 6 vzorků (A-F) jablečného destilátu odpipetoval 1 ml do předem označených sterilních skleněných vialek se šroubovacím víčkem. Vialky byly vloženy do stojanu plynového chromatogramu, kde se provedl nástřik 1 µl vzorku do kapilární chromatografické kolony a to přes víčko, v jehož středu je septum, které se při nástřiku propíchno. Během přípravy vzorků pro metodu GC-FID nebylo provedeno ředění ani jiná úprava.

#### 11.1.5 Příprava kalibračních roztoků

Pro zjištění přítomné koncentrace methanolu byly připraveny kalibrační roztoky o obsahu 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 a 1 % (v/v) methanolu ve vodě a ethanolu.

## 12 STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU V JABLEČNÝCH DESTILÁTECH

Koncentrace methanolu byla stanovena s využitím regresní rovnice kalibrační přímky, do které byla dosazena hodnota naměřené plochy píku methanolu z analyzovaného vzorku plynovou chromatografií s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID).

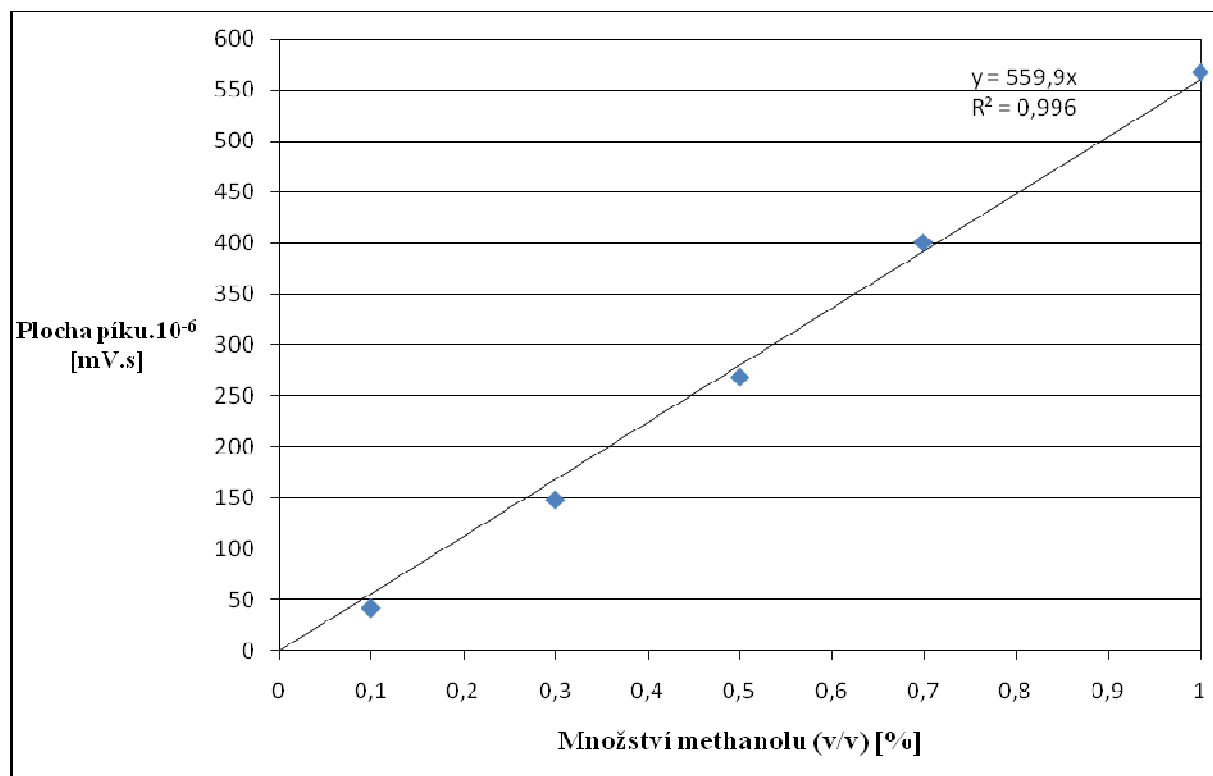
### 12.1 Metoda kalibrační křivky

Byla provedena analýza série kalibračních roztoků o známé, ale různé koncentraci (Tab. 7). Sestrojila se kalibrační přímka v závislosti plochy píku na koncentraci methanolu (Obr. 12) a z tohoto grafu se určila koncentrace methanolu ve vzorcích jablečných destilátů.

Tab. 7. Analyzované hodnoty kalibračních roztoků k sestrojení kalibrační přímky.

Kalibrační roztok č.	Množství methanolu (v/v) [%]	Plocha píku.10 <sup>-6</sup> [mV.s]
1	0,1	41,2
2	0,3	147,7
3	0,5	267,8
4	0,7	401
5	1	567,3

Obr. 12. Kalibrační přímka.





## 12.2 Datová vyhodnocení analýzy vzorků

Veškerá datová vyhodnocení o přítomnosti methanolu pomocí plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID) byla zaznamenána softwarem Agilent ChemStation a zpracována do přehledných tabulek (Tab. 8, 9).

Tab. 8. Datová vyhodnocení pro vzorky první destilace.

Měřené vzorky	Retenční čas [min]	Plocha píku. $10^{-6}$ [mV.s]	Výška píku. $10^{-6}$ [mV]	Šířka píku [s]
<b>vzorek A</b> (lutr)	1,695	117,3	72,9	0,0228
<b>vzorek B</b> (úkap)	1,694	255,1	131,0	0,0227
<b>vzorek C</b> (jádro)	1,692	184,2	107,4	0,0250

Tab. 9. Datová vyhodnocení pro vzorky druhé destilace.

Měřené vzorky	Retenční čas [min]	Plocha píku. $10^{-6}$ [mV.s]	Výška píku. $10^{-6}$ [mV]	Šířka píku [s]
<b>vzorek D</b> (lutr)	1,690	61,2	40,2	0,0218
<b>vzorek E</b> (úkap)	1,690	176,5	96,2	0,0264
<b>vzorek F</b> (jádro)	1,690	118,5	68,5	0,0252

## 12.3 Postup stanovení methanolu

Methanol byl nastříknut do vyhřívaného bloku (nástřikové komory), kde se odpařil a ve formě par byl unášen nosným plynem do kolony, kde se separoval podle nastaveného teplotního programu (Tab. 4). V plamenově ionizačním detektoru (FID) se indikovala koncentrace methanolu a v programu Agilent ChemStation byl vyhodnocen na základě plochy píku. Plochy píků všech naměřených vzorků byly zpracovány do tabulek (Tab. 7, 8). Ke stanovení methanolu se připravily kalibrační roztoky a podle jejich kalibrační přímky a plochy analyzovaného píku methanolu se zjistila přítomná koncentrace methanolu v jablečných destilátech.

### 13 VÝSLEDKY A DISKUZE

Stanovení koncentrace methanolu bylo pozitivní ve všech vzorcích z první destilace i ve vzorcích destilace druhé (Tab. 10, 11). Pro lepší představu, jak docházelo k růstu i poklesu koncentrace methanolu během dvoustupňové destilace, jsou uvedena i grafická zpracování dosažených výsledků (Obr. 13, 14).

Byla sestavena kalibrační přímka s regresní rovnicí:

$$y = 559,9x$$

y.....velikost plochy píku [mV.s]

x.....koncentrace methanolu (v/v) [%]

Korelační koeficient pro závislost plochy píku na koncentraci methanolu:

$$R^2 = 0,996$$

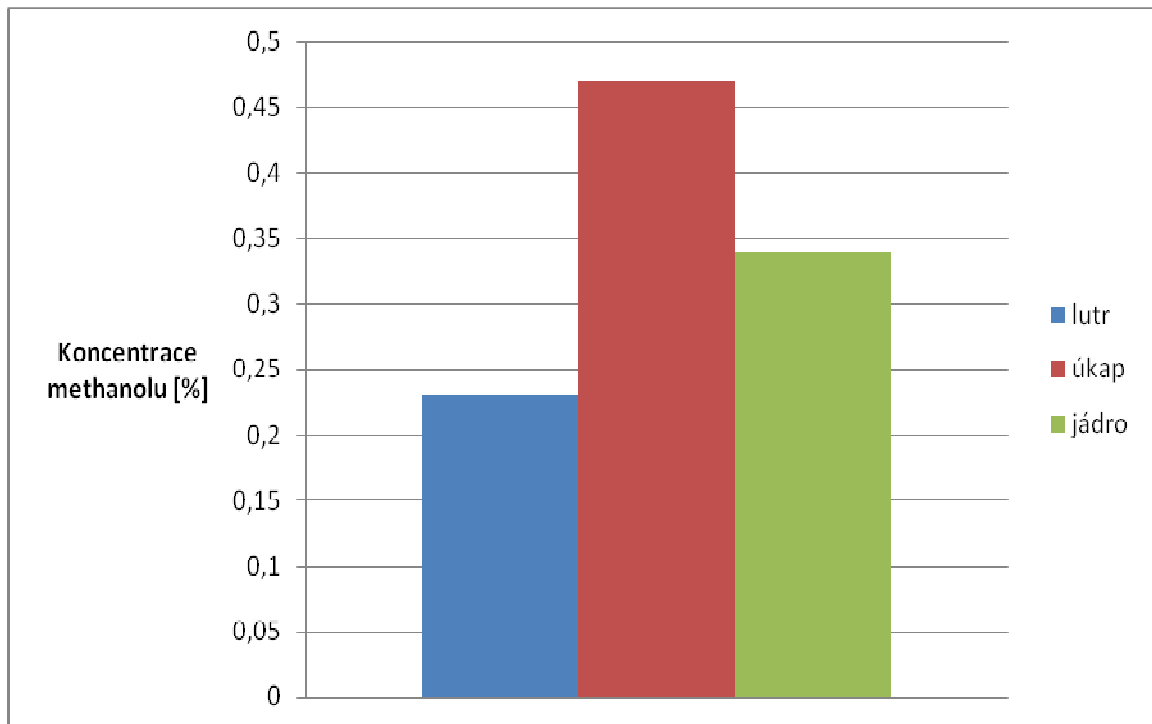
Tab. 10. Stanovené koncentrace methanolu z první destilace

Analyzované vzorky	Koncentrace (v/v) [%]
Vzorek A (lutr)	0,21
Vzorek B (úkap)	0,46
Vzorek C (jádro)	0,33

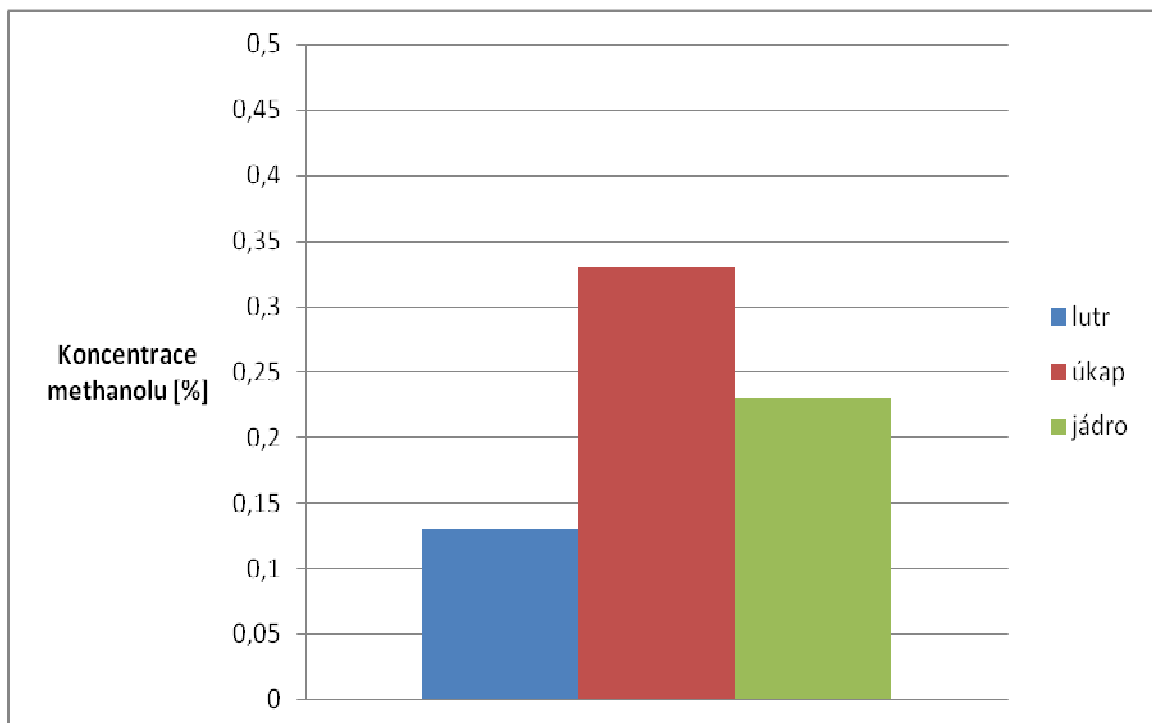
Tab. 11. Stanovené koncentrace methanolu z druhé destilace

Analyzované vzorky	Koncentrace (v/v) [%]
Vzorek A (lutr)	0,11
Vzorek B (úkap)	0,32
Vzorek C (jádro)	0,21

Obr. 13. Grafické znázornění měnící se koncentrace methanolu v procesu první destilace



Obr. 14. Grafické znázornění měnící se koncentrace methanolu v procesu druhé destilace



Stanovené koncentrace methanolů během procesů první i druhé destilace nebyly lineárního růstu. To odpovídá správnému odběru úkapu, čímž se dosáhlo poklesu obsahu hlavně methanolu. Také aldehydů a esterů v jádře, které ovlivňují ve velké míře aroma destilátu. Špatný odběr frakce úkapu by tedy znamenal vyšší obsah methanolu, štiplavou vůni a zhoršenou chuť destilátu.

V prvním vzorku A (vzorek lutru) byl methanol zastoupen z 0,21 %. Toto množství přítomného methanolu vzniká v přírodě z polysacharidu pektinu obsaženého v ovoci. Methanol je tedy již přirozenou součástí kvasu.

Ve vzorku B (vzorek úkapu) bylo stanoveno více jak dvojnásobné množství koncentrace methanolu než ve vzorku A. Bylo naměřeno 0,46 % methanolu. Tento nárůst methanolu se projevuje na začátku druhé destilace (rektifikace), kdy se zkondenzuje na vyšší koncentraci, protože dochází k pozvolnému zahřívání kvasu a methanol má nejnižší bod varu s porovnáním vody a ethanolu, tím dochází nejdříve k odpařování methanolu. Dalším důvodem jeho rychlejšího odpaření, je jeho vysoká hodnota tenze par na rozdíl od ethanolu a vody (Tab. 2). Čím je tenze par látky vyšší, tím je i rychlost odpařování rychlejší.

Koncentrace 0,33 % methanolu byla naměřena ve vzorku C (vzorek jádra). V porovnání s předchozím vzorkem B se koncentrace snížila o 1,39 %, protože během procesu druhé destilace se snížil obsah methanolu v parách a tím i jeho výsledná koncentrace v analyzovaném konzumním destilátu.

U analyzovaných vzorků D, E a F, které byly odebrány během druhé destilace, která se provedla o 14 dní později, se zjistilo, že v porovnání s výsledky z první destilace, došlo k celkovému snížení koncentrace methanolu u každé frakce o více jak 0,1 %. Snížení koncentrace methanolu mohlo být způsobeno špatným těsněním víka na kvasné nádobě nebo jeho špatným usazením po delší dobu, kdy docházelo k vyprchání methanolu. Dalším důvodem mohlo být i to, že při pálení, které se provádělo přímým ohřevem, nemuselo dojít k pozvolnému zahřívání kvasu během dvoustupňové destilace, ale k rychlému vzestupu teploty a tím i k poklesu koncentrace methanolu.

## ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo stanovit koncentraci methanolu v analyzovaných jablečných destilátech. Pro stanovení koncentrace methanolu byl použit plynový chromatograf s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID). Provedlo se stanovení tří vzorků z první destilace a stanovení dalších tří vzorků z druhé destilace. Pro porovnání zjištěných hodnot přítomného methanolu se proces kvašení pro druhou destilaci prodloužil o 14 dní.

Stanovení výsledků bylo provedeno pomocí regresní rovnice kalibrační přímky a plochy píků. Ve vzorcích z první destilace byla stanovena následující koncentrace methanolu: 0,21 % ve vzorku A (lutr), 0,46 % ve vzorku B (úkap) a 0,33 % ve vzorku C (jádro). Ve vzorcích z druhé destilace byla stanovena tato koncentrace methanolu: 0,11 % ve vzorku A (lutr), 0,32 % ve vzorku B (úkap) a 0,21 % ve vzorku C (jádro). Stanovená koncentrace methanolu ve všech šesti vzorcích nepřekročila hodnotu 1 %, tedy analyzované vzorky 50% jablečných destilátů splňují vyhlášku k zákonu č. 141/1997 Sb., která stanovuje maximální přípustné množství methanolu na nejvýše 15 g/l 38 až 75% jablečného destilátu, to odpovídá asi 1 % methanolu v 50% jablečném destilátu.

Z procentuálního stanovení jednotlivých frakcí destilace plyne, že nejvyšší koncentrace methanolu je přítomna během začátku druhé destilace v tzv. úkapu, který se během destilace oddělí od konzumního destilátu (jádra). Koncentrace ve výsledném konzumním destilátu dosahovala maximálně 0,33 % methanolu. To potvrdilo správný technologický postup během dvoustupňové destilace v pěstitelské pálenici.

Z průběhu zpracování bakalářské práce lze doporučit se alespoň krajově obeznámit s problematikou přítomnosti methanolu v destilátech. Přes různé sdělovací prostředky jako internet nebo noviny si spotřebitelé mohou vyhledat laboratoře, kde se provádí analýzy alkoholů pro stanovení obsahu methanolu. I přes provedené kontroly, zabezpečení závadných alkoholů inspektory a zavedení nového značení kolků se neustále objevují nové případy otrav methanolem, což znamená, že tento závadný alkohol je ještě přítomen v obchodních řetězcích.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] VACÍK, Jiří. *Přehled středoškolské chemie*. 4. vyd., V SPN - pedagogickém nakladatelství 2. vyd. Praha: SPN - pedagogické nakladatelství, 1999, 365 s. ISBN 80-7235-108-7.
- [2] PELCLOVÁ, Daniela. *Nejčastější otravy a jejich terapie*. 2., dopl. a rozš. vyd. Praha: Galén, c2009, 163 s. ISBN 978-80-7262-603-8.
- [3] CONSIDINE, Glenn, D. *Van Nostrand's chemical encyclopedia*. 5th ed. Hoboken: John Wiley&Sons, 2005, xiv, 1831 s. ISBN 0-471-61525-0.
- [4] ROE, O. *Methanol poisoning: its clinical course, pathogenesis sand treatment*. Scand,1946, 126, 1946, 1-252.
- [5] BENNETT, I. L.; FREEMAN, H. C.; MITCHELL, G. L. *Acute methylalkohol poisoning: Are view base don experiences in anout break of*. Medicine, 1953, 32, 431-463.
- [6] TEPHLY, Th. R. *The toxicity of methanol*. Life Sciences, 1991, 48, 1031-1041.
- [7] KANE, R. L.; TALBER, W.; HARLAN, J. *Methanol in gestion: prevention of toxic sequelae after massive ingestion*. J. Emerg Med, 2003, 24, 433-436.
- [8] Bezpečnostní list. [online]. [2013-03-10]. Dostupný z WWW:  
<[http://www.makofoto.cz/ceniky/bezpecnostni\\_list\\_eclipse.pdf](http://www.makofoto.cz/ceniky/bezpecnostni_list_eclipse.pdf)>.
- [9] MCMURRY, John. *Organická chemie*. Vyd. 1. v Brně: VUTIUM, 2007, xxv, 1176, 61, 31 s. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [10] ČERVINKA, Otakar. *Chemie organických sloučenin*. 1. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1985, 1136 s.
- [11] MCMURRY, John. *Organic chemistry: with biological applications 2e*. 2nd ed. Belmont: Brooks/Cole, 2011, xxiii, 1044, 53, 30 s. ISBN 978-0-495-39147-0.
- [12] DĚDEK, Václav, FERLES, Miloslav, ČERVINKA, Otakar. *Organická chemie*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1969, 1070 s.
- [13] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2., opr. vyd. Praha: Academia, 1996, 186, 134, 191 s. ISBN 80-200-0600-1.

- [14] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: Academia, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [15] ALBERTS, Bruce. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. Ústí nad Labem: Espero, 2001, xxvi, 630 s., [100] s. ISBN 80-902906-2-0.
- [16] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Vyd. 1. Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN 8090239145.
- [17] JABOR, Antonín. *Vnitřní prostředí*. 1. vyd. Praha: Grada, 2008, xxvi, 530 s. ISBN 978-80-247-1221-5.
- [18] VOKURKA, Martin, HUGO, Jan. *Velký lékařský slovník*. 9., aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, c2009, xv, 1159 s. ISBN 978-80-7345-202-5.
- [19] LÜLLMANN, Heinz, MOHR, Klaus, WEHLING, Martin. *Farmakologie a toxikologie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, 2004, 725 s. ISBN 80-247-0836-1.
- [20] SOLOMONS, T., FRYHLE, Craig, B. *Organic chemistry*. 8th ed. Hoboken, NJ: John Wiley&Sons, c2004, 1 sv. (různé stránkování). ISBN 0471417998.
- [21] MURRAY, Lindsay. *Toxicology handbook*. 2nd ed. Sydney: Chrchill Living stone, 2011, xii, 529 s. ISBN 978-0-7295-3939-5.
- [22] HUNDERI, Odd, HOVDA, Helge, JACOBSEND, Knut, Erik. *Use of the osmolal gap to guide start and duration of dialysis in methanol poisoning*. Scand J Urol Nephrol, 2006, 40, 70-74.
- [23] MYCYK, M. B.; LEIKEN, J. B. *Antidote review: fomepizole for methanol poisoning*. Am J Ther, 2003, 10, 68 – 70.
- [24] LUSHINE K. A.; HARRES C. R.; HOLGER J. S. *Methanol in gestion: preventon of toxic sequelae after massive ingestion*. Emerg Med, 2003, 24, 43 – 6.
- [25] MALLEOVÁ, Bettina, SCHMICKLOVÁ, Helge. *Domácí výroba lihovin*. Praha: Pavel Dobrovský – BETA, 2004. 154 s. ISBN 80-7306-144-9.
- [26] MELZOCH, Karel. *Lihoviny jako „zdravotně nezávadné“ potraviny?* [online]. [cit. 2013-03-10]. Dostupný z WWW:

- <<http://www.uloz.to/hledej?q=v%C3%BDroba+dom%C3%A1c%C3%ADho+v%C3%ADna+a+destil%C3%A1t%C5%AF>>.
- [27] GOLLES, Alois. *Ušlechtilé destiláty: Praktická kniha o pálení*. Praha: Ivo Železný, 2001. 109 s. ISBN 80-237-3642-6.
- [28] ŠKOPEK, Josef. *Výroba destilátů z vlastního ovoce*. 1. vyd. České Budějovice: Dona, 2003. 139 s. ISBN 80-7322-045-8.
- [29] ROP, Otakar, HRABĚ, Jan. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009, 129 s. ISBN 978-80-7318-748-4.
- [30] Vyhláška č. 335/1997 Sb. [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1007482&docType>>.
- [31] Vyhláška č. 140/1997 Sb. [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://www2.lekarnici.cz/download/povinne-info/B20.HTM>>.
- [32] Vyhláška č. 157/2003 Sb. [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006197&doctype=ART>>.
- [33] Zákon č. 61/1997 Sb. [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1007490&docType=ART&nid=11816>>.
- [34] Zákon č. 353/2003 Sb. [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://portal.gov.cz/app/zakony/zakonPar.jsp?page=0&idBiblio=55953&recShow=10&nr=353~2F2003&rpp=15#parCnt>>.
- [35] Vyhláška č. 141/1997 Sb. [online]. [cit. 2013-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://www2.lekarnici.cz/download/povinne-info/B21.HTM>>.
- [36] VONDRÁČEK, Otakar. *Výroba lihu a ušlechtilých pálenek z ovoce, výroba octa*. 2. přeprac. vyd. Praha: Čs. Společnost chemická 1945. 263s.
- [37] KAVINA, Josef. *Zbožiznalství potravinářského zboží pro 2. ročník středních odborných učilišť a integrovaných středních škol*. 1. vyd. Praha: IQ 147, 1996, 335 s.



- [38] PISCHL, Josef. *Vyrábíme ušlechtilé destiláty*. Rychtera Mojmir. 1. vyd. Praha: Ivo Železný, 1997. 177 s. ISBN 80-237-3441-5.
- [39] SUS, Josef, RICHTER, Miloslav. 2002. *Obrazový atlas peckovin 2: Broskvoně, meruňky a další druhy ovoce*. Praha: Květ.
- [40] RYCHTERA, Mojmir; UHER, Jiří; PÁCA, Jan. *Lihovarství, droždářství a vinařství II*. 2 vyd. Praha: VŠCHT, 1991, 127-351 s. ISBN 8070701174.
- [41] HRIČOVSKÝ, I. a KOLEKTIV, *Drobné ovoce a méně známé druhy ovoce*, 1. Vyd. Bratislava 2: Příroda, 2002. ISBN: 80-07-01004-1.
- [42] HAGMAN, Klaus, ESSICH, Birgit. *Pálíme ovoce*. Stuttgart: VÍKEND, 2007, 95 s. ISBN 978-80-86891-66-8.
- [43] CEREVITINOV, F. *Chemické složení a fyzikální vlastnosti ovoce a zeleniny*. 1. vyd. Praha: Průmyslové vydavatelství, 1952, 321, [1] s.
- [44] HANOUSEK, Miloš. *Domácí výroba moštů*. Grada Publishing, a.s., Praha, 2006, 74 s. ISBN 978-80-247-6076-6.
- [45] DYR, Josef, DYR, Jan E. *Výroba slivovice a jiných pálenek*. Očenášková. 4. dopl. vyd. Praha 4 : MAXDORF, 1997, 219 s. ISBN 80-85800-80-2.
- [46] ČERNÝ, Miloslav, TRNKA, Tomáš, BUDĚŠÍNSKÝ, Miloš. *Sacharidy*. 1. vyd. Praha: Česká společnost chemická, 2010, 178 s. ISBN 978-80-86238-81-4.
- [47] DAVÍDEK, Jiří, JANÍČEK, Gustav, POKORNÝ Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 1. Praha: SNTL, 1983, 629 s.
- [48] HRABĚ, Jan, HOZA, Ignác, ROP, Otakar. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: bakalářský stupeň*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005, 178 s. ISBN 8073183722.
- [49] VONÁŠEK, František, TREPKOVÁ Emilie, NOVOTNÝ Ladislav. *Látky vonné a chuťové*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987, 437 s.
- [50] UNGEROVÁ – GOBELOVÁ, Ulla. *Vitaminy*. Munchen, 1999, 91 s. ISBN 80-7202-508-2.

- [51] UHROVÁ, Helena. *Děláme si sami: slivovici, meruňkovici, hruškovici, jablkovici a jiné ovocné destiláty, vína, šťávy a sirupy*. Vydavatelství Víkend; Kašpar Jaroslav. 1. vyd. Líbeznice : Víkend, 2001, 107 s. ISBN 80-7222-180-9.
- [52] VODRÁŽKA, Zdeněk, KRÁLOVÁ, Blanka, ŠÍCHO, Vladislav. *Potravinářská biochemie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: SNTL, 1981, 360 s.
- [53] KOLEKTIV autorů. *Lihovarnická příručka*. Praha: Agrospoj, 1998.
- [54] JULÁK, Jaroslav. *Klinicky významné bakterie*. 1. vyd. V Praze: Triton, 2012, 123 s. ISBN 978-80-7387-588-6.
- [55] ROSYPAL, Stanislav. *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2003, xxii, 797 s. ISBN 80-7183-268-5.
- [56] PELIKÁN, M., DUÁŠ, F., MÍŠA D.: *Technologie kvasného průmyslu*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1996, 135 s. ISBN 80-7157-240-3.
- [57] ZELINKA, Ján. *Bakteriálne a plesňové fermentácie*. 1. vyd. Bratislava: Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, 1960, 359 s.
- [58] KADLEC, Pavel, MELZOCH, Karel, VOLDRICH, Michal. *Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výrob*. Vyd. 1. Ostrava: KEY Publishing, 2012, 494 s. ISBN 978-80-7418-086-6.
- [59] VOHLÍDAL, Jiří, ŠTULÍK Karel, JULÁK, Alois. *Chemické a analytické tabulky*. 1. vyd. Praha: Grada, 1999, 647 s. ISBN 8071698555.
- [60] BILLET, Reinhard. *Průmyslová destilace*. Vyd. 1. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1979, 501 s.
- [61] JÍLEK, Jan. *Příprava ovocných kvasů na výrobu slivovice*. Olomouc: Dobra & Fontána, 1999, 208s. ISBN 80-86179-28-1.
- [62] RUSU COLDEA, Teodora Emilia, SOCACIU, Carmen, PARV, Maria, VODNAR, Dan. *Gas-Chromatographic Analysis of Major Volatile Compounds Found in Traditional Fruit Brandies from Transylvania, Romania*. Not Bot Horti Agrobo. 2011, 39, 109-116s. [cit. 2013-04-12]. Dostupný z WWW: <http://www.notulaeobotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/6053/6429>.

- [63] WINTEROVÁ, Renata, MIKULÍKOVÁ, Renata, MAZÁČ, Jiří, HAVELEC, Pavel. *Assessment of the Authenticity of Fruit Spirits by Gas Chromatography and Stable Isotope Ratio Analyses*. Czech J. Food Sci. 2008, 26, 368-375s. [online]. [cit. 2013-04-12]. Dostupný z WWW:  
<<http://agriculturejournals.cz/publicFiles/02513.pdf>>.
- [64] DRBAL, Karel, Křížek, Martin. *Analytická chemie*. České budějovice, 1999, 185 s.
- [65] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [66] OPEKAR, František. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2003, 201 s. ISBN 8024605538.
- [67] LÓPEZ-VÁZQUEZ, Cristina, BOLLAÍN, María Herminia, BERSTSCH, Klaus, ORRIOLS, Ignacio. *Fast determination of principal volatile compounds in distilled spirits*. Food Control. 2010, 21, 1436-1441s. [online]. [cit. 2013-04-12]. Dostupný z WWW:  
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713510001155>>.
- [68] SAVARY, Brett, J., NUNEZ, Alberto. *Gas chromatography-mass spectrometry method for determining the methanol and acetic acid contents of pectin using headspace solid-phase microextraction and stable isotope dilution*. Journal of Chromatography A. 2013, 1017, 151-159s. [cit. 2013-04-13]. Dostupný z WWW:  
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967303012937>>.
- [69] WROBEL, Kazimierz, MUNOZ, RODRÍGUEZ, David, AGUILAR, ACEVEDO, Francisco Javier, WROBEL, Katarzyna. *Determination of methanol in o,o-dimethyldithiophosphoric acid (DMDTPA) of technical grade by UV/vis spectrophotometry and by HPLC*. Talanta. 2005, 66, 125-129s. [cit. 2013-04-13]. Dostupný z WWW:  
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914004006496>>.

- [70] BAREK, Jiří, OPEKAR, František, ŠTULÍK, Karel. *Elektroanalytická chemie*. Nakladatelství Karolinum, Praha, 2005, ISBN 80-246-1146-5, 188 s.
- [71] PEREIRA, Polyana, F., SOUSA, Raquel, M. F., MUNOZ A. A., RICHTER, Eduardo M. *Simultaneous determination of ethanol and methanol in fuel ethanol using cyclic voltammetry*. *Fuel*, 2013, 103, 725 – 729 s. [cit. 2013-04-13].  
Dostupný z WWW:  
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236112005832>>.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AED	atomový emisní detektor
AFID	plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem
FID	plamenový ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
GC-FID	plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem
GC/MS	plynová chromatografie s hmotnostním detektorem
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
LC	kapalinová chromatografie
MS	hmotnostní spektrometr
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
SPE	extrakce pevnou fází
SPME	mikroextrakce pevnou fází
TCD	tepelně vodivostní detektor
TID	bezplamenný detektor s alkalickým kovem
CNS	centrální nervový systém

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. Rovnice hydrogenace oxidu uhelnatého. ....	13
Obr. 2. Rovnice využití zemního plynu. ....	13
Obr. 3. Rovnice solvolytické reakce [10]. ....	13
Obr. 4. Rovnice reakce aldehydu v alkalickém prostředí [10].....	13
Obr. 5. Enzymatická hydrolýza pektinových látek [13, 14].....	14
Obr. 7. Metabolismus methanolu a ethylenglykolu [23]. ....	16
Obr. 8. Chemické složení ovoce [28]. ....	27
Obr. 9. Anaerobní ethanolová glykolýza [52].....	35
Obr. 10. Destilační kotel, klobouk, teplotní čidlo, přestupní trubka a chladič. ....	42
Obr. 11. Přístroj GC 7820A. ....	62
Obr. 12. Kalibrační přímka. ....	64
Obr. 13. Grafické znázornění měnící se koncentrace methanolu v procesu první destilace .....	67
Obr. 14. Grafické znázornění měnící se koncentrace methanolu v procesu druhé destilace .....	67

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1. Maximální přípustné množství methanolu je uvedeno v prováděcí vyhlášce k zákonu o lihu č. 141/1997 Sb., příloha 3 [35].	22
Tab. 2. Vlastnosti hlavních komponent přítomných během pálení ovocných destilátů [59].	40
Tab. 3. Vzorky odebrané během první destilace.	60
Tab. 4. Vzorky odebrané během druhé destilace.	60
Tab. 5. Zvolené parametry plynové chromatografie pro analýzu methanolu v jablečných destilátech.	62
Tab. 6. Teplotní program kolony ke stanovení methanolu.	63
Tab. 7. Analyzované hodnoty kalibračních roztoků k sestrojení kalibrační přímky.	64
Tab. 8. Datová vyhodnocení pro vzorky první destilace.	65
Tab. 9. Datová vyhodnocení pro vzorky druhé destilace.	65
Tab. 10. Stanovené koncentrace methanolu z první destilace	66
Tab. 11. Stanovené koncentrace methanolu z druhé destilace.	66