

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

OVĚŘENÍ PRAVOSTI POMERANČOVÉ ŠŤÁVY TOMA
NA ZÁKLADĚ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

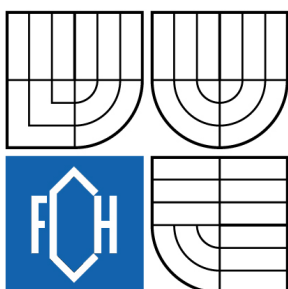
AUTHOR

JANA CVRKOVÁ

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

OVĚŘENÍ PRAVOSTI POMERANČOVÉ ŠŤÁVY TOMA

NA ZÁKLADĚ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH PARAMETRŮ

THE CONTROL OF TOMA ORANGE JUICE AUTHENTICITY
ON THE BASIS OF SELECTED CHEMICAL PROPERTIES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

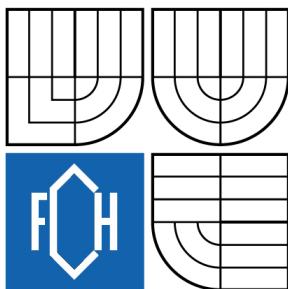
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

JANA CVRKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

PhDr. MIROSLAV HRSTKA, Ph.D.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce

FCH-BAK0053/2006

Akademický rok: **2007/2008**

Ústav

Ústav chemie potravin a biotechnologií

Student(ka)

Cvrková Jana

Studijní program

Chemie a technologie potravin (B2901)

Studijní obor

Potravinářská chemie (2901R021)

Vedoucí bakalářské práce

PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.

Konzultanti bakalářské práce

Název bakalářské práce:

Ověření pravosti pomerančové šťávy Toma
na základě vybraných chemických parametrů

Zadání bakalářské práce:

1. V teoretické části práce definovat pomerančovou šťávu, popsat technologii výroby, legislativu v Evropské unii a v České republice, nejčastější způsoby falšování a uvést analytické metody pro zjišťování pravosti ovocných šťáv.
2. V experimentální části provést vybraná stanovení a na základě získaných výsledků vyvodit závěry o pravosti pomerančové šťávy Toma.

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2007

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Jana Cvrková
student(ka)

PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.
Vedoucí práce

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2006

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá ověřováním pravosti pomerančové šťávy Toma na základě vybraných chemických parametrů.

V teoretické části jsou definovány základní pojmy týkající se pomerančové šťávy. Tato část se také soustředí na popis procesů výroby pomerančové šťávy, na historický vývoj legislativy v Evropské unii a České republice, na nejčastější způsoby falšování ovocných šťáv a na metody, které zjišťují pravost ovocných šťáv.

V experimentální části byla provedena určitá stanovení a naměřené hodnoty byly porovnány s výsledky normovaných hodnot a byl vyvozen závěr o pravosti pomerančové šťávy Toma z komerční sítě.

ABSTRACT

This study verifies Toma orange juice authenticity on the basis of selected chemical properties.

In the theoretical part are definitions of the basic concepts concerning the orange juice. This part is also focused on characterization of technology procedures of orange juices, historical development of legislation in the European Union and Czech Republic, the most frequent ways of adulteration of fruit juices and methods, which determine their authenticity.

In experimental part were made determinate analyses of orange juice Toma and experimental results were compared with standard values. On this basis it was deduced a conclusion about authenticity of orange juice Toma from commercial network.

KLÍČOVÁ SLOVA

Pomerančová šťáva, legislativa, falšování, autentifikace.

KEYWORDS

Orange juice, legislation, adulterating, authentication.

CVRKOVÁ, J. *Ověření pravosti pomerančové šťávy TOMA na základě vybraných chemických parametrů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 41 s. Vedoucí bakalářské práce PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ:

*Děkuji PhDr. Miroslavu Hrstkovi, Ph.D.
za trpělivost, pomoc a odborné vedení
během psaní této práce.*

Jana Cvrková

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	DEFINICE POMERANČOVÉ ŠŤÁVY	8
2.2	VÝROBA POMERANČOVÝCH ŠŤÁV	8
2.3	LEGISLATIVA EU.....	12
2.3.1	Definice: Ovocné šťávy a nektary [2].....	12
2.3.2	Povolená aditiva nebo pomocné procesy při zpracování	13
2.3.3	Definice: ovocné pyré a dřeň	13
2.3.4	AIJN Kodex	13
2.4	LEGISLATIVA V ČESKÉ REPUBLICE	15
2.5	PRAVOST OVOCNÝCH ŠŤÁV A JEJICH FALŠOVÁNÍ	17
2.5.1	Detekce přídavku sacharosy a jiných sacharidů	17
2.5.2	Detekce poměru izotopů	17
2.5.3	Detekce přídavku sekundárních ovocných extraktů	18
2.5.4	Ověřování pravosti ovocných šťáv podle organických kyselin.....	18
2.5.5	Ověřování pravosti ovocných šťáv podle aminokyselinového složení, obsahu nukleotidů a dusíkatých látek	18
2.5.6	Ověřování pravosti ovocných šťáv podle polyfenolového profilu.....	18
2.5.7	Ověřování pravosti ovocných šťáv podle profilu stopových prvků.....	18
2.5.8	Ověřování pravosti podle vůně a chuťových složek.....	18
2.5.9	Ověřování pravosti ovocných šťáv podle barevného profilu.....	19
2.5.10	Imunoanalytické metody ověřování pravosti ovocných šťáv	19
2.6	ANALYTICKÉ METODY PRO ZJIŠŤOVÁNÍ PRAVOSTI OVOCNÝCH ŠŤÁV	19
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	22
3.1	MATERIÁL	22
3.2	METODY	22
3.2.1	Stanovení relativní hustoty podle ČSN EN 1131 [14].....	22
3.2.2	Stanovení hodnoty pH podle ČSN EN 1132 [12].....	23
3.2.3	Odhad obsahu rozpustné sušiny podle ČSN EN 12143 [16].....	23
3.2.4	Stanovení titrační kyselosti [11].....	25
3.2.5	Stanovení formolového čísla [13]	26
3.2.6	Stanovení kyseliny mléčné jodometricky [9]	27
3.2.7	Stanovení aminokyselin automatickým analyzátozem [9]	28
4	VÝSLEDKY	30
4.1	STANOVENÍ RELATIVNÍ HUSTOTY	30
4.2	STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ	30
4.3	STANOVENÍ KYSELINY MLÉČNÉ JODOMETRICKY	32
4.4	STANOVENÍ TITRAČNÍ KYSELOSTI	32
4.5	STANOVENÍ HODNOTY pH	34
4.6	STANOVENÍ FORMOLOVÉHO ČÍSLA.....	34
4.7	ODHAD OBSAHU ROZPUSTNÉ SUŠINY	35
4.8	STANOVENÍ AMINOKYSELIN METODOU AAA	35
4.9	SHRNUTÍ VÝSLEDKŮ ANALÝZ	37

5	ZÁVĚR.....	38
6	LIERATURA	39
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	40

1 ÚVOD

Počátek průmyslové výroby nealkoholických nápojů v Evropě spadá na konec 17. století. V oblasti ovocných a zeleninových šťáv lze o počátku výroby hovořit v souvislosti s prvním průmyslovým využitím pasterace kolem roku 1896 Welchem. V rozvoji výroby šťáv sehráli svou roli vinaři. Velkým popularizátorem výroby pasterizovaných ovocných šťáv byl známý šlechtitel vinné révy Müller – Thurgau.

Ve 20. letech 20. století byl zaznamenán rychlý růst spotřeby ovoce a zeleniny. Stalo se tak díky širším znalostem o významu vitamínů a dalších složek potravin pro zdravou výživu. Ve 30. letech 20. století došlo k velkému rozvoji a ke zvýšené spotřebě ovocných a zeleninových šťáv na celém světě. V současné době představuje výroba ovocných a zeleninových šťáv průmyslový obor na vysoké technické úrovni, rozšířený ve všech průmyslově vyspělých zemích.

V posledních letech spotřeba ovocných šťáv v Evropě stále roste. Je to tím, že se ovocné šťávy vyznačují nejen lahodnou chutí, ale také velkým obsahem vitamínů a minerálních látek. Mezi nejpopulárnější ovocné šťávy patří bezpochyby pomerančová šťáva, a proto patří k ovocným šťávám, které jsou falšovány nejčastěji.

Šťáva označená jako 100%, musí vyhovovat legislativním požadavkům jak České republiky tak i Evropské unie. Požadavky na ovocné šťávy v České republice jsou dány zákonem č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí a dále vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb. Pro EU vydává všeobecně závazné přepisy a limity ukazatelů kvality ovocných nápojů Asociace průmyslu šťáv a nektarů (AIJN).

Cílem této práce je ověření pravosti pomerančové šťávy Toma z obchodní sítě na základě vybraných chemických parametrů.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Definice pomerančové šťávy

Podle normy ČSN 56 8541 [1] platí následující definice:

Pomerančová šťáva je zkvasitelná ale nezkvašená kapalina získaná z endokarpu zralého a zdravého ovoce druhu *Citrus sinensis* mechanickými postupy a popřípadě fyzikálně ošetřena.

Přímá šťáva je získaná lisováním přímo z ovoce bez zakoncentrování a následné rekonstituce.

Šťáva vyrobená z *koncentrátu* je šťáva získaná přidáním vody vhodné kvality a aroma odděleného při koncentraci ke koncentrátu v takovém množství, aby výsledný produkt dosahoval kvality původní šťávy.

Šťáva s přídavkem dužniny je šťáva, do které byla přidána dužnina (buňky) ve svém původním množství; výrobek s přídavkem dužniny musí být takto označen.

„*Pulp wash*“ je produkt vzniklý druhým lisováním pomerančové dužniny, obsahující vyšší podíl pektinových látek a flavonoidních glykosidů; přídavek „*pulp wash*“ do výrobku označeného jako „pomerančová šťáva“ není přípustný.

Rátio je poměr refraktometrické sušiny (v %) a kyselosti (vyjádřeno jako kyselina citrónová bezvodá v %).

Rekonstituce je opětovné doplnění podílu vody popř. aroma (které byly odebrány v průběhu koncentrace šťávy) při výrobě šťávy z koncentrátu.

2.2 Výroba pomerančových šťáv

Největším producentem pomerančové šťávy je Brazílie. Nejlepší vlastnosti půdy a klimatické podmínky jsou důvodem, proč se v tomto nejlevnějším regionu na světě produkuje a exportuje přes 80 % koncentrátů pomerančové šťávy. Centrum zpracování je v Sao Paulu. Poté je šťáva exportována lodí a nakonec uskladněna v Ghentu (Belgie) a distribuována do celé Evropy.

Pomeranče jsou sklizeny od května do ledna. Společnosti kontrolují dobu sklizně, aby se ujistily, že pomeranče jsou dostatečně vyztřálé. Pomeranče jsou sbírány ručně a rovnou převáženy na pracoviště v Sao Paulu.

Dalším světovým producentem pomerančové šťávy je Florida. Zde jsou pomeranče sbírány od října do června. Společnosti opět kontrolují vyztřalost plodů, ty jsou sbírány ručně a ihned odváženy. Florida je především producentem pomerančové šťávy pro Severní Ameriku [4].

Zpracování

Dužnina citrusových plodů je tvořena paprskovitými vlákny se semeny. Tyto vlákna či „pulpovité váčky“ jsou plné šťávy a dávají ovoci jeho charakteristickou strukturu [4].

Ovoce přicházející ze zásobníku se pere v horké vodě a dezinfikuje se chlorovaným vodním roztokem. Potom se plody přepravují na pásech, kde se třídí. Ty, které se nehodí pro zpracování nebo jsou porušené, se ručně odstraňují [4]. Vytříděné plody se krátce ponoří do mycího roztoku a omyjí a osprchují se čistou vodou. Škrabky poté opatrně obrousí část slupky obsahující silice [5].

Během extrakce dužniny je nežádoucí, aby byla šťáva v přímém kontaktu se slupkou, protože by mohlo dojít ke zhořknutí šťávy. Extraktor udělá nahoře a dole díru do ovoce a před samotným lisováním „pošle“ dužninu se šťávou do potrubí. Tato šťáva obsahuje dužninu (pulpu) a větší kusy, které je potřeba odstranit před zahuštěním (zkonzentrováním) na sítích [4]. Někdy se vylisovaná šťáva pasteruje zahřáním na teplotu 85 – 95 °C, a ještě za horka se plní do obalů. Tím vzniká takzvaná přímo lisovaná šťáva, premium. Je nejlepší a také nejdražší, u nás se neprodává [5]. Odstraněná dužnina se přidá ke slupkám, a vytvoří se tak pulpové pelety (kuličky, tablety). Velmi kvalitní oddělená pulpa (známá jako pomerančové buňky), může být přidána ke šťávám či nápojům.

Menší kousky ze semen, slupek a pulpy zanechané ve šťávě jsou odstraněny přístrojem zvaným cyklóna. Šťáva je pak přemístěna do odstředivek, aby se snížil další obsah pulpy. Po odstředění je obsah pulpy snížen na 2 – 10 % šťávy v závislosti na finálním produktu. Např. šťáva vyráběná s přídavkem CO₂, musí mít velmi nízký podíl pulpy [4].

Odkalení

V surové šťávě se nachází zákalotvorné láky, které působí opalescenci šťávy. V ovocných šťávách je také obsažen rozpuštěný pektin, který má vůči těmto koloidům stabilizační účinek. Prvním krokem je tedy rozklad pektinu pektolytickými enzymy. Po odstranění pektinu se ze šťávy vyloučí přítomné kaly, které již nejsou ve šťávě stabilizovány.

Kaly je možné ze šťávy odstranit pomocí ultrafiltrace nebo přídavku taninu a želatiny, které tvoří ve šťávě sraženinu, do níž se kaly vážou. Případně je možné použít nerozpustné sorbety poutající kaly na svůj povrch (křemičitý gel). Vyrobený koncentrát z takto upravené šťávy by se neměl zakalovat a šťáva z něho připravené by měly zůstat čiré. [11]

Výroba koncentrátu

Všechny džusy na našem trhu jsou vyrobeny z koncentrátu [5]. Principem výroby koncentrátu (*obr. 1*) je zahuštění ovocné šťávy až na koncentraci rozpustné sušiny 65 – 70 %. Takto zahuštěná šťáva je v důsledku nízké aktivity vody a nízkého pH samoudržná. Výchozí surovinou pro výrobu koncentrátů je surová ovocná šťáva zbavená hrubých kalů. Odlisovaná šťáva zbavená hrubých kalů se nejdříve přivádí do odparky, kde se při teplotách blízkých 100 °C odpaří cca 10–30 % vody. Současně se s vodou oddělí i podíl těkavých aromatických látek.

Potom je pomerančová šťáva uskladněna při tak nízké teplotě (–18 °C), která chrání vlastnosti šťávy na dlouhé období. Díky vysoké koncentraci šťáva nezmrzne a může být ještě čerpána [4]. Páry z jímáče aroma se vedou do rektifikační kolony, kde se zakonzcentrují. Je tak získán koncentrát aroma.

Pokud jde o parametry vyrobeného koncentrátu, měl by být husté sirupovité konzistence, obsah rozpustné sušiny by měl být alespoň 65 %. Pokud nebyl koncentrát vyroben z barevného ovoce, měl by být světlý, čirý, ovocné chuti bez cizích příchutí a příchutí, s obsahem kyseliny 2 až 6 %. Běžná doba trvanlivosti je asi 10 měsíců [5].

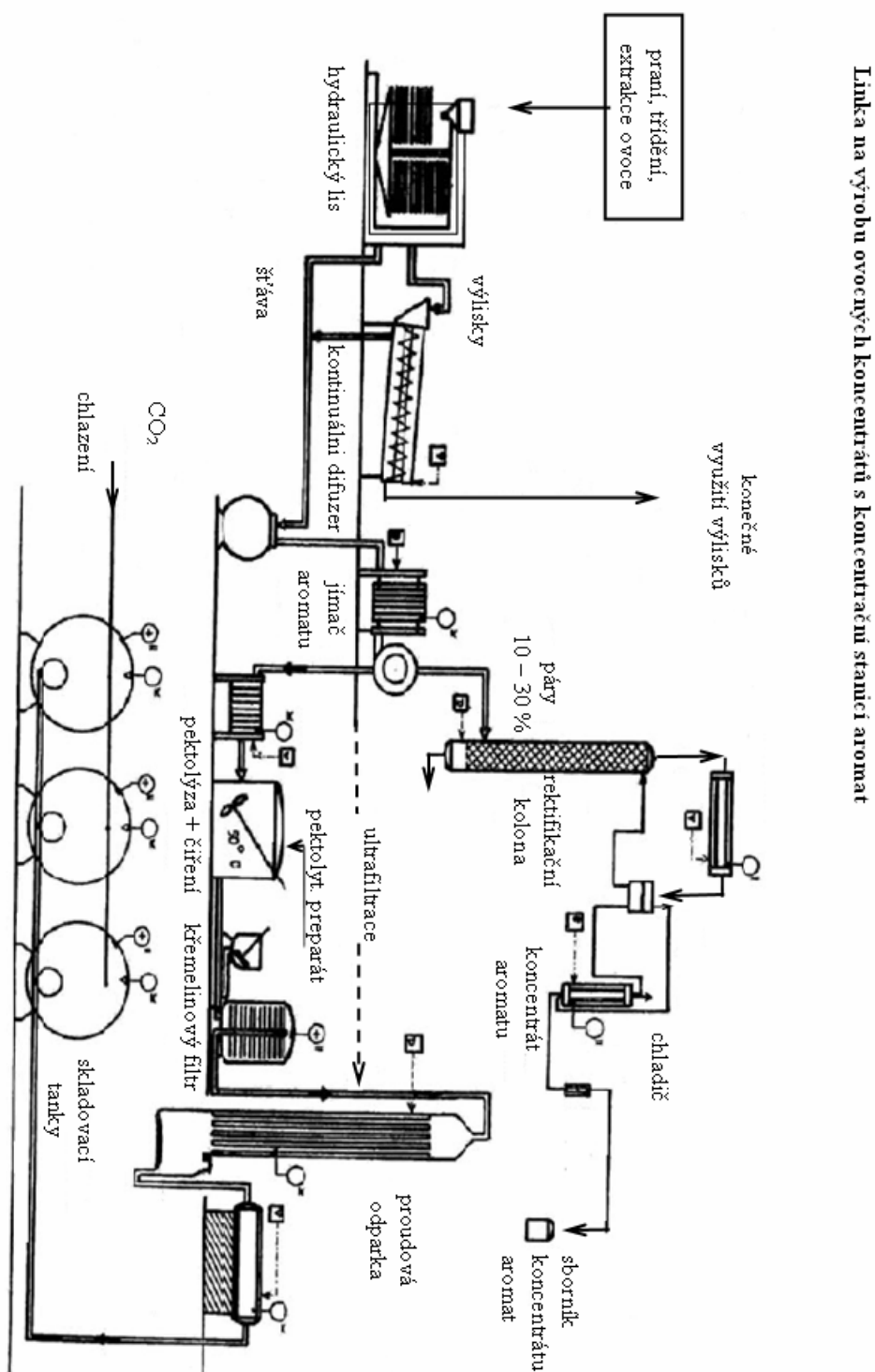
Skladování, transport

Po procesu výroby je šťáva míchána ve velkých tancích (cisternách), které mají objem od několika set tun do 3,000 tun. Různé vlastnosti (aroma, pulpa, ...) jsou ze šťávy uloženy samostatně (odděleně) a mohou být smíchány v různých stupních distribučního procesu při výrobě.

Sklad a distribuční terminál pro velké množství pomerančové šťávy, umístěný v Ghentu, umožňuje včasné dodávky této šťávy do různých evropských zemí pro produkci nejen pomerančových šťáv ale i multi - ovocných šťáv [4].

Výrobce přidá ke koncentrátu tolik vody, kolik z ní bylo původně odebráno. Před plněním do obalů šťávu opět pasteruje. Někteří výrobci vylisovanou dužninu, jež zbyla na sítích, lisují ještě jednou. Získají tak zředěnou a hořkou šťávu zvanou “pulp wash”, která se musí dochutit přídavkem cukru, případně kyselinou citrónovou. Používá se při míchání levnějších šťáv nižší kvality [5].

Obr. 1 Schéma výroby ovocných koncentrátů [6]



2.3 Legislativa EU

2.3.1 Definice: Ovocné šťávy a nektary [2]

Ovocná šťáva je přesně popsána v obecné Směrnici Rady 93/77/EEC z 21. září 1993. Tato směrnice poskytuje následující popis týkající se těchto produktů:

Ovoce

Ovoce, čerstvé nebo uchovávané v chladu, neporušené, nezkažené, obsahující všechny nepostradatelné složky potřebné k produkci ovocných šťáv a nektarů a přiměřený stupeň zralosti. Rajská jablka nejsou pokládána za ovoce.

Ovocná šťáva

(a) Šťáva získávaná z ovoce mechanickým procesem, zkvasitelná ale nefermentovaná, mající charakteristickou barvu, aroma a chuť ovoce, ze kterého pochází.

V případě citrusových plodů by měla šťáva pocházet z dužniny; nicméně šťáva z citrusových plodů může být získávána z celých plodů (včetně slupky) vhodným výrobním procesem, kterým podíl složky z vnější části ovoce je maximálně zredukován.

(b) Produkt získávaný z koncentrované ovocné šťávy

Navrácení složky vody, která byla extrahována ze šťávy při jeho koncentrování - voda, která je přidávána musí mít přijatelné vlastnosti, částečně z chemického, mikrobiologického a organoleptického hlediska pro garanci nezbytných kvalit šťávy.

Jeho aroma je obnovováno prostřednictvím těkavých látek sesbíraných během koncentrování z ovocné šťávy, ze které je džus vyroben, nebo z ovocné šťávy stejného druhu ovoce, a které má organoleptické a analytické vlastnosti rovnocenné s ovocnou šťávou získanou z ovoce stejného druhu v souladu s odstavcem o ovocné šťávě (a).

Cukry jsou přidávány ve velkém množství, v suchém stavu. Toto množství nesmí být větší než povolené tzn. 15 g na litr. V případě ovocných šťáv, jiných než hruškových a hroznových, se cukr přidává za účelem úpravy jejich kyselosti. Přidání maximálně 100 g cukru na litr (40 g.l⁻¹ pro jablečnou, 200 g.l⁻¹ pro citrónovou a limetovou šťávu a šťávu z červeného a černého rybízu) v suchém stavu, je povoleno za účelem oslazení. Avšak tento přídatek může být zakázán v určité členské zemi EU a ve všech případech je předmětem příslušného vyznačení na etiketě.

Přidávání cukrů a kyselin do stejných ovocných šťáv není povoleno dle čl.4, §3.

Koncentrovaná ovocná šťáva

Produkt získávaný z ovocných šťáv fyzikálním odstraněním specifické části dužniny obsahující vodu. Jestliže je produkt určen pro přímou spotřebu, redukce objemu by neměla být menší než 50 %.

Ovocný nektar

Nefermentovaný ale fermentovatelný produkt získávaný přidáním vody a cukrů do ovocných šťáv, koncentrovaných ovocných šťáv, ovocného pyré, koncentrovaného ovocného pyré nebo do směsi těchto produktů.

Přidávání cukrů a/nebo medu je dovoleno do 20 % hmotnosti z celkové hmotnosti konečného produktu.

2.3.2 Povolená aditiva nebo pomocné procesy při zpracování

Směrnice Rady 93/77/EEC povolila pro produkci ovocných šťáv jistý enzymatický zásah (pektolytické, proteolytické a amylolytické enzymy) a další rozmanité pomocné procesy při zpracování, například inertní filtrační pomocné látky.

Směrnice 94/35/EEC z 30. června 1994 a 95/2/EEC z 20. února 1995 udává povolené množství různorodých aditivních látek.

Umělá sladidla jsou povolena v nektarech prodávaných pro diabetiky.

2.3.3 Definice: ovocné pyré a dřeň

Ovocné pyré a dřen jsou definovány jako syrové materiály ve Směrnici Rady 79/693/EEC z 24. července 1973. Tato směrnice poskytuje následující popis týkající se těchto produktů:

Ovocná dřeň

Jedlá část z celého ovoce, s menším množstvím slupky, kůže, semen, jader, atd., které mohou být přepasírovány nebo namačkány, ale které nezahušťují pyré.

Ovocné pyré

Jedlá část z celého ovoce s menším množstvím slupky, kůže, semen, jader, atd., které přepasírováním nebo podobným procesem zahušťují pyré.

2.3.4 AIJN Kodex

Kodex Alimentarius, nebo potravinový kodex se stal celosvětovou referenční příručkou pro spotřebitele, producenty a výrobce potravin, národní potravinové kontrolní agentury i mezinárodní obchod s potravinami. Kodex měl obrovský dopad na myšlení producentů a výrobců potravin stejně jako na povědomí finálních uživatelů – spotřebitelů. Jeho vliv se rozšířil do všech kontinentů a přispěl k ochraně veřejného zdraví a k poctivému obchodování s potravinami na trhu.

Kodex Alimentarius je současný systém, který dává příležitost všem zemím připojit se k mezinárodnímu společenství ve formulaci a harmonizaci potravinových standardů a zajištění jejich globální implementace (realizace). To také připouští jejich roli ve vývoji „kodexů“ regulujících hygienické směrnice ve výrobě a různá doporučení vztahující se k souhlasu s těmito standardy.

Obecná historie Kodexu Alimentarius

Od r. 1961 byly učiněny první kroky k založení Kodexu. Komise Kodexu Alimentarius je orgán pověřený rozvíjením „potravinového kodexu“ koncipovaný tak, aby upoutal světovou pozornost na poli bezpečnosti a kvality potravin. Nyní, po padesáti letech, všechny důležité aspekty vztahující se k ochraně zdraví spotřebitele a poctivým praktikám v oblasti obchodu s potravinami spadají pod kontrolu Komise.

Komise Kodexu Alimentarius byla podporovaná ve své práci všeobecně přijatou mravní zásadou, podle které mají lidé právo na bezpečné potraviny dobré jakosti vhodné pro spotřebu.

Význam „potravinového kodexu“ pro spotřebitelskou ochranu zdraví byl zdůrazněn v roce 1985 rezolucí 39/248 Organizace spojených národů, jejíž směrnice byly přijaty pro použití v podrobném zpracování a k posílení politické ochrany spotřebitele

Role komise Kodexu Alimentarius se vyvíjela a rozvíjela sama. Úkol vytvoření „potravinového kodexu“ je obrovský a kvůli trvalému výzkumu a vývoji výrobků prakticky nekonečný.

Finalizace potravinových standardů (norem) a jejich sestavení do „kodexu“, který je věrohodný a autoritativní, vyžaduje rozsáhlou konzultaci. Stejně tak sběr a vyhodnocení informací je ověřováno a následně proběhne schválení finálních výsledků.

Vytvoření standardů, které chrání spotřebitele, zabezpečují poctivé praktiky v oblasti prodeje potravin a usnadňují obchod, je složitý proces. Proces, který zahrnuje specialisty z různých oblastí potravin, související vědecké disciplíny, spotřebitelské organizace, výrobní a zpracovatelský průmysl, kontrolní potravinové správce a obchodníky [8].

Historie AIJN Code of Practice pro ovocné šťávy

Obecná, fyzikální, chemická a mikrobiologická kritéria pro ovocné a zeleninové šťávy a nektary v Evropské unii

Pro členské státy Evropské unie je dodržování směrnice pro ovocné šťávy ze 17. 11. 1975 (Směrnice Rady 75/726/EEC), upravených 5. 2. 1979, 30. 6. 1981 a 20. 6. 1989 právně závazné.

Na žádost Komise mělo být Radou upřesněno ustanovení článku 13 z původní směrnice tak, aby "analytické a mikrobiologické vlastnosti produktů byly přesně definované" [3]. Komise také vznesla požadavek vymezit další příslušné směrnice (např. metody analýz nezbytných pro kontrolu složení a výrobu), ale žádný z těchto požadavků nebyl akceptován.

Nakonec byl článek 13 částečně pozměněn, ale přesné definování analytických a mikrobiologických vlastností produktů a vymezení dalších směrnic bylo přenecháno Evropskému společenství (European Community) pro odvětví výroby ovocných šťáv.

AIJN asociace Evropského společenství pro odvětví výroby ovocných šťáv tento těžký úkol přijala.

Skupina expertů technické komise formulovala obecně platné analytické vlastnosti nejdříve pro jablečné, grapefruitové, pomerančové a hroznové šťávy a vytvořila „Referenční standardy“.

Následně, po přidání komentáře a užívaných analytických metod, byly tyto dokumenty schváleny 3. května 1990 v Bruggách na Generálním shromáždění AIJN.

Tento AIJN Kodex je referenční příručkou pro výrobu a vlastnosti ovocných šťáv v zemích EU.

Referenční standardy stanovují limitní hodnoty pro jednotlivé analytické parametry. Komentáře k referenčním standardům přispívají ke správné interpretaci výsledků analýz.

2.4 Legislativa v České republice

Požadavky na ovocné šťávy v České republice jsou dány prováděcí vyhláškou zákona 110/97 č. 335/1997 Sb., v platném znění, po poslední novelizaci ze dne 23. 2. 2000. [7]

V současnosti požadavky na ovocné šťávy určuje také norma ČSN 56 8541, která spolu s ČSN 56 8242 a ČSN 56 8243 nahrazuje ČSN 56 8210 a ČSN 56 8540.

Tato norma je určena jako referenční příručka pro hodnocení kvality, identity a autenticity pomerančové šťávy, tzn. šťávy, která je takto označena na obalu. Hodnoty požadavků uvedené v této normě vycházejí z autentických a „nezlepšovaných“ šťáv majících charakteristickou barvu, vůni a chuť ovoce, z kterého pocházejí. Požadavky uvedené v části A jsou absolutní (min./max.) kritéria na jakost šťávy. Požadavky uvedené v části B jsou kritéria pro určování identity, autenticity (pravosti) a také některá méně významná kritéria jakosti.

To, že vzorek nevyhoví v některém z požadavků uvedených v části B, neznamená automaticky, že se jedná o neautentický výrobek, rovněž když vzorek splní veškeré parametry části B, není to automatická jistota autenticity. Pro správné vyhodnocení je nutné expertní posouzení širokého analytického spektra z části A i části B [1].

Tabulka 2.4.1: Část A – Absolutní požadavky na kvalitu (pro přímé šťávy a šťávy z koncentráту) [1]

	Jednotky	Požadavky
Přímá šťáva		
Relativní hustota 20/20	-	min. 1,040
Refraktometrická sušina	%	min. 10,00
Šťávy z koncentráту		
Relativní hustota 20/20	-	min. 1,045
Refraktometrická sušina	%	min. 11,20
Pro všechny pomerančové šťávy (přímé i z koncentráту)		
Kyselina L-askorbová	mg.l ⁻¹	min. 200
Těkavé oleje	ml.l ⁻¹	max. 0,3
Těkavé kyseliny jako kyselina octová	g.l ⁻¹	max. 0,4
Ethanol	g.l ⁻¹	max. 3,0
Kyselina mléčná	g.l ⁻¹	max. 0,5
Kyselina D-jablečná	mg.l ⁻¹	není přítomno
Kyselina sírová	mg.l ⁻¹	není přítomno
Hydroxymethylfurfural (HMF)	mg.l ⁻¹	max. 20

Tabulka 2.4.2: Další požadavky pro zjišťování identity a autenticity – část B[1]

	Jednotky	Požadavky
<i>Titrovatelná kyselost při pH 8,1</i>	g.l ⁻¹	5,8–15,4
<i>Kyselina citronová</i>	g.l ⁻¹	6,3–17,0
<i>Kyselina D-isocitronová</i>	mg.l ⁻¹	65–200
<i>Poměr kys. citronová : kys. isocitronová</i>	-	max. 130
<i>Kyselina L-jablečná</i>	g.l ⁻¹	0,8–3,0
<i>Popel</i>	g.l ⁻¹	2,8–5,0
<i>Sodík (Na)</i>	mg.l ⁻¹	max. 30
<i>Draslík (K)</i>	mg.l ⁻¹	1300–2500
<i>Hořčík (Mg)</i>	mg.l ⁻¹	70–160
<i>Poměr draslík (K) : hořčík (Mg)</i>	-	max. 21
<i>Vápník (Ca)</i>	mg.l ⁻¹	60–50
<i>Celkový fosfor</i>	mg.l ⁻¹	115–210
<i>Sírany (jako SO₄²⁻)</i>	mg.l ⁻¹	max. 150
<i>Formolové číslo</i>	ml 0,1 mol.l ⁻¹ NaOH/100 ml	15–26
<i>Hesperidin (dle Davise)</i>	mg.l ⁻¹	max. 1000
<i>Celkové pektiny</i>	mg.l ⁻¹	max. 700
<i>Celkové karotenoidy</i>	mg.l ⁻¹	max. 15
<i>Sacharosa</i>	g.l ⁻¹	10–50
<i>Amoniak</i>	mg.l ⁻¹	max. 25,5
<i>Ethanolamin</i>	mg.l ⁻¹	max. 36,6
<i>Aminokyseliny</i>	mg.l⁻¹	mmol.l⁻¹
<i>Kyselina asparagová</i>	200–400	1,5–3,1
<i>Threonin</i>	10–50	0,08–0,42
<i>Serin</i>	105–210	1–2
<i>Asparagin</i>	225–660	1,7–5
<i>Kyselina glutamová</i>	75–205	0,51–1,39
<i>Glutamin</i>	max. 75	max. 0,51
<i>Prolin</i>	450–2090	3,91–18,17
<i>Glycin</i>	10–25	0,13–0,33
<i>Alanin</i>	60–205	0,67–2,3
<i>Valin</i>	10–30	0,09–0,26
<i>Methionin</i>	max. 5	max. 0,03
<i>Isoleucin</i>	3–15	0,02–0,11
<i>Leucin</i>	3–15	0,02–0,11
<i>Tyrosin</i>	5–20	0,03–0,11
<i>Fenylalanin</i>	15–55	0,09–0,33
<i>Kyselina γ-aminomáselná</i>	180–500	1,75–4,85
<i>Ornitin</i>	3–20	0,02–0,15
<i>Lysin</i>	20–65	0,14–0,45
<i>Histidin</i>	5–25	0,03–0,16
<i>Arginin</i>	400–1000	2,3–5,75

2.5 Pravost ovocných šťáv a jejich falšování

Většina ovocných šťáv se prodává jako rekonstituovaná (znovuobnovená) ovocná šťáva připravená z koncentrátu. Ačkoli množství vody přidávané do rekonstituovaných šťáv, dané legislativní smlouvou, musí být stejné jako odebrané během "koncentrování", je velice obtížné toho dosáhnout legálně.

Falšování

Nejjednodušší formou falšování je naředění roztoku koncentrátu vodou. Tím dojde ke snížení hodnoty °Brix. Standardy vycházející z těchto hodnot ale neodrážejí aktuální °Brix původní šťávy.

Další způsoby falšování: snížený obsah ovocného podílu, vyšší podíl šťávy získaný po extrakci výlisků (tzv. pulp wash) a přidavek cukru do šťávy, která je označená jako nepřislazená.

Nepřiznaný přidavek cukru

Cukr, jako výrobek, je o mnoho levnější než ovocná šťáva, a proto jeho přidávání vede ke zvýšení hodnoty Brix a to může být ekonomicky výhodné. Přidává se cukr řepný, třtinový nebo kukuřičný, nebo upravený cukerný sirup jako HFS (high fructose corn sirupe – kukuřičný sirup s vysokým obsahem fruktosy) nebo BMIS (beet medium invert sirup – řepný středně invertovaný sirup). Tak jako se analytické metody jsou stále úspěšnější v detekci různých typů cukrů, tak se ve falšování používá stále dalších chemicky modifikovaných cukerných sirupů, za účelem vyhnout se prozrazení.

Nepřiznaný přidavek některých dalších druhů ovoce

Tržní hodnota všech druhů ovoce se řídí ekonomickými pravidly nabídky a poptávky. Ceny mohou hodně kolísat z jednoho období do dalšího, mohou být ovlivněny špatnou úrodou, nadbytkem nebo regulací trhu. Přidavek levnějšího alternativního ovoce, v případě nutnosti rychlé dodávky a/nebo při nadměrné poptávce, je další docela běžnou formou falšování. Například zahrnuje přidavek grapefruitové šťávy do pomerančové, jablečné do šťávy z červeného ovoce a hruškové do jablečné. [2]

2.5.1 Detekce přídatku sacharosy a jiných sacharidů

Přidavek sacharosy při ředění ovocných šťáv vodou se projeví poklesem hodnoty neredukujícího extraktu a zvýšením poměru sacharidů vzhledem k obsahu rozpustných látek. Tím dojde ke změně poměru koncentrací sacharosy, glukosy a fruktosy.

2.5.2 Detekce poměru izotopů

U šťáv se také zjišťuje poměr izotopů C, H a O. Jejich poměr se přepočte na hodnotu δ , ve které je zpracován i poměr izotopů pro referenční materiál.

Podle poměru izotopu uhlíku je možné určit přidavek sacharidů. Lze využít na důkaz některých aditivních aromatických látek.

Podle poměru izotopu kyslíku je možné posoudit autenticitu vody v ovocné šťávě. Poměr izotopů kyslíku ve vodné fázi ovoce je jiný jak ve vodě použité k ředění koncentrátu.

Deuterium je možné využít jako ukazatel signalizující přidavek nepůvodních sacharidů do šťáv. Sacharidy z různých zdrojů mají rozdílný poměr D/H.

2.5.3 Detekce přídavku sekundárních ovocných extraktů

Z dřeně ovoce, která zůstane po primární izolaci šťávy se připravují ještě sekundární extrakty mixováním dřeně a/nebo slupky ovoce s vodou. Přírodní šťávy, ve kterých se deklaruje 100% obsah šťávy, by neměly obsahovat přídavek tohoto druhotného extraktu. Rozlišení přídavku sekundárního extraktu pomerančů je možné zjištěním poměru narirutinu k hesperidinu. Na maskování druhotného ovocného extraktu se používají barviva.

2.5.4 Ověřování pravosti ovocných šťáv podle organických kyselin

Celkový profil organických kyselin poskytuje také určitý obraz o pravosti ovocných šťáv. Celková acidita ve vztahu k celkovému obsahu sacharidů (°Brix) je indikátorem stavu zralosti ovoce, z kterého byla připravena ovocná šťáva.

2.5.5 Ověřování pravosti ovocných šťáv podle aminokyselinového složení, obsahu nukleotidů a dusíkatých látek

Pravost ovocných šťáv podle aminokyselinového složení se už dlouho uplatňuje díky automatickému analyzátoru aminokyselin, zejména při ověřování pomerančových a grapefruitových šťáv. Tato metoda byla uplatněna poté, co byla zavedena kontrola šťáv jednoduchými zkouškami, jako stanovení formolového čísla nebo chloraminového indexu, kde byla kontrola zaměřena na stanovení celkového aminokyselinového dusíku. Přídavkem amonných solí však bylo možno ředění šťáv zamaskovat, a proto bylo nutno přistoupit k posouzení celkového aminokyselinového profilu.

2.5.6 Ověřování pravosti ovocných šťáv podle polyfenolového profilu

Technikou zjištění polyfenolového profilu je možné detekovat zejména přídavky druhotného dřeňového extraktu k původní šťávě. Dále je možné tuto metodu využít při rozlišování jednotlivých druhů šťáv. Tato metoda je nejúčinnější pro šťávy, ve kterých polyfenoly těžko oxidují. Na základě stanovení naringinu, který není přítomen v pomerančové šťávě, můžeme potvrdit přídavek grapefruitové šťávy.

2.5.7 Ověřování pravosti ovocných šťáv podle profilu stopových prvků

Zjištěním obsahu stopových prvků jako jsou hliník, baryum, vápník, železo, draslík, lithium, mangan, sodík, fosfor, rubidium, křemík a zinek získáme podklady o geografickém původu vzorku. Obsah stopových prvků v ovocných nápojích zobrazuje minerální složení půdy, ve které ovoce roste.

2.5.8 Ověřování pravosti podle vůně a chuťových složek

Pravost ovocných šťáv podle chuti a vůně vychází z průzkumu a stanovení zejména prchavých látek, které jsou typické pro každou potravinu. Pro správné zhodnocení a interpretování charakterizace chuťových a vonných látek je potřebné poznat řídicí mechanismy biosyntézy a akumulace vonných a chuťových látek v rostlinách, druh, původ, klimatické podmínky a zralost surovin, dále tvorbu sekundárních aromatických sloučenin a jejich důležitost pro kompozici vůně v technologicky zpracovaných produktech. Potvrzení přírodní identity vůně vychází ze stanovení relativních koncentrací aromatických látek a koncentračních poměrů pravých a falšovaných produktů.

2.5.9 Ověřování pravosti ovocných šťáv podle barevného profilu

Při ověřování pravosti ovocných šťáv podle obsahu barviv se uplatňují zejména karotenoidy (v pomerančové šťávě) a antokyaniny.

2.5.10 Imunoanalytické metody ověřování pravosti ovocných šťáv

Aplikací imunoanalytických metod lze zjistit přímý obsah pomerančové šťávy v ovocných šťávách a přídavky extraktů pomerančových slupek do pomerančové šťávy[7].

2.6 Analytické metody pro zjišťování pravosti ovocných šťáv

Jak se praktiky falšování stávaly důmyslnější, tak se i analytické techniky musely vyvíjet stejným tempem. Od jednodušších mokrých chemických metod užívaných ke stanovení množství určitých parametrů, až po plně moderní instrumentální metody pro ověření autenticity potravin.

Složení ovocné šťávy může být definováno souborem fyzikálních a chemických parametrů typický pro každý druh ovoce. Protože se však jedná o přírodní produkt, chemické složení ovocné šťávy se může měnit docela značně. Složení šťávy ovlivňuje zeměpisný původ, odrůda, podnebné a půdní podmínky v oblastech, kde ovoce roste a další faktory. Technologické procesy používané pro produkci ovocných šťáv mohou také ovlivnit jejich složení.

K analytickým metodám pro zjišťování pravosti ovocných šťáv patří tato stanovení:

- stanovení relativní hustoty
- odhad obsahu rozpustné sušiny refraktometricky
- stanovení titrační kyselosti
- stanovení popela
- stanovení hodnoty pH
- stanovení obsahu fosforu spektrofotometricky
- stanovení formolového čísla
- stanovení obsahu sodíku, draslíku, vápníku a hořčíku atomovou absorpční spektrometrií (AAS)
- stanovení obsahu prolinu spektrofotometricky
- enzymové stanovení obsahu kyseliny L-jablečné – NADH spektrofotometricky
- enzymatické stanovení obsahu kyseliny D-jablečné – NAD spektrofotometricky
- enzymové stanovení obsahu kyseliny citronové – NADH spektrofotometricky
- enzymové stanovení obsahu kyseliny D-isocitronové – NADPH spektrofotometricky
- enzymové stanovení obsahu D-glukosy a D-fruktosy – NADPH spektrofotometricky
- enzymatické stanovení obsahu sacharosy – NADP spektrofotometricky
- stanovení obsahu síranů
- stanovení hesperidinu a naringinu v citrusových šťávách vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií
- stanovení obsahu glukosy, fruktosy, sorbitolu a sacharosy metodou využívající HPLC
- enzymové stanovení obsahu D- a L- kyseliny mléčné – NAD spektrofotometricky
- stanovení celkového obsahu karotenoidů a obsahu jednotlivých frakcí karotenoidů
- stanovení poměru stabilního izotopu uhlíku ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) v cukrech ovocných šťáv izotopovou hmotnostní spektrometrií
- stanovení poměru stabilního izotopu kyslíku ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) ve vodě ovocných šťáv izotopovou hmotnostní spektrometrií

- stanovení poměru stabilního izotopu vodíku ($^2\text{H}/^1\text{H}$) ve vodě ovocných šťáv izotopovou hmotnostní spektrometrií
- stanovení poměru stabilního izotopu uhlíku ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) v dužnině ovocných šťáv izotopovou hmotnostní spektrometrií
- stanovení obsahu volných aminokyselin kapalinovou chromatografií

Tabulka 2.6.1: Přehled některých dalších metod používaných pro testování autenticity ovocných šťáv a pyré [2]

<i>Analytická metoda</i>	<i>Analyticko - indikační údaje</i>	<i>Aplikovatelnost</i>
HPLC	Cukry, sorbitol	celkový profil, hrubé znehodnocení přidaným cukrem
HPLC	Organické kyseliny	celkový profil, nepřiznané okyselení
Enzymatická	Kyselina jablečná	detekce a přídavek kyseliny jablečné
HPLC	Kyselina jablečná	detekce a přídavek kyseliny jablečné
Iontová chromatografie	Organické kyseliny	celkový profil, nepřiznané okyselení
Iontová chromatografie	Kationty, obsah minerálů	celkový profil
HPLC	Flavonové glykosidy	příměsi citrusových šťáv
HPLC	Flavony	příměsi citrusových a exotických ovocných šťáv
HPLC	Karotenoidy	přídavek barviv, mandarin v pomerančích
HPLC	Aminokyseliny	celkový profil, přídavek cizího ovoce
GC	Aminokyseliny	celkový profil, přídavek cizího ovoce
HPAEC - PAD	Oligosacharidy	přídavek sladidel
GC	Oligosacharidy	přídavek sladidel
IRMS	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ poměr	přídavek cukru z C4 zdrojů
SNIF-NMR	$^2\text{H}/^1\text{H}$ poměr	přídavek cukru z C3 zdrojů
IRMS	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ poměr	přídavek vody do NFC šťáv
IRMS	Multi-izotopický profil	přídavek cukru, kyselin
MDGC	Enantiomerické složení "flavour" sloučenin	přírodní/syntetické "flavour" sloučeniny
AAS, ICP-MS, ICP- AES	Stopové prvky	geografický původ
UV/Vis absorbční a fluorescenční	Absorbance ve 443, 325 a 280 nm	přídavek pulp wash
HPAEC - PAD	Pektinové fragmenty	přídavek extraktu ze slupek a pulp wash
^1H NMR	Spektrální profil	screeningová metoda
PCR	DNA	pomerančové a grapefruitové směsi

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Materiál

Značka vzorku: Toma

Popis vzorku: Pomerančová šťáva z koncentrátu, obsah ovocné složky 100 %, pasterováno, bez chemické konzervace, nesyceno, nedoslazováno

Výrobce: GENERAL BOTTLERS CR s. r. o, Česká republika

Číslo šarže L: 04:09*3*030832

Minimální trvanlivost do: 14. 3. 2008

3.2 Metody

3.2.1 Stanovení relativní hustoty podle ČSN EN 1131 [14]

Princip: Relativní hustota $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ je hmotnost známého objemu analytického vzorku při 20 °C dělená hmotností stejného objemu od vzdušné vody při 20 °C (bezrozměrné číslo). Stanoví se pyknometrem.

Chemikálie: Roztok dichromanu draselného a kyseliny sírové.

Použitelnost: Metoda se používá pro stanovení hustoty všech ovocných a zeleninových šťáv.

Přístroje a pomůcky: Analytické váhy, pyknometr podle Reischauera na 50 ml, termostat nebo vodní lázeň nastavitelná na 20 °C, kapilára.

Postup: Suchý pyknometr se zváží s přesností na 4 desetinná místa, naplní se těsně nad rysku od vzdušné vodou, uzavře se zátkou a nechá se temperovat na 20 °C. Potom se výška hladiny vody upraví kapilárou tak, aby se spodní okraj menisku právě dotýkal rysky pyknometru. Prázdná část hrdla pyknometru se vysuší tamponem z filtračního papíru, pyknometr se uzavře zátkou, pečlivě osuší a zváží se s přesností na 4 desetinná místa. Po zvážení se pyknometr propláchne zkoušeným vzorkem, naplní se vzorkem těsně nad rysku a dále se postupuje jako s vodou.

Výpočet: Relativní hustota $d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}}$ vzorku se vypočítá podle vztahu:

$$d_{20\text{ °C}/20\text{ °C}} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a}$$

kde:

m_c je hmotnost pyknometru naplněného analytickým vzorkem při 20 °C v g,

m_a je hmotnost prázdného pyknometru v g a

m_b je hmotnost pyknometru naplněného vodou při 20 °C v g.

Relativní hustota se vyjádří na čtyři desetinná místa.

Přesnost: Absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou jednotlivých zkoušek, provedených na stejném zkušebním materiálu jedním pracovníkem, za použití stejného zařízení, v nejkratším možném časovém intervalu nemá přesáhnout hodnotu 0,00018.

3.2.2 Stanovení hodnoty pH podle ČSN EN 1132 [12]

Princip: Hodnota pH je záporná hodnota logaritmu koncentrace vodíkových iontů v molech na litr roztoku. Měří se potenciometricky.

Použitelnost: Metoda se používá pro stanovení hodnoty pH ovocných a zeleninových šťáv.

Chemikálie: tlumivý roztok pH 6,88 při 20 °C, tlumivý roztok pH 3,57 při 20 °C.

Přístroje a pomůcky: pH metr, skleněná elektroda na měření pH, referenční elektroda.

Postup: Kalibrace pH metru a elektrod se provádí podle návodu výrobce přístroje. Pokud vzorek obsahuje znatelné množství oxidu uhličitého, zbaví se plynu protřepáním vzorku v uzavřené baňce, dokud se nepřestane uvolňovat plyn. Hodnota pH se změří dle návodu výrobce.

Výpočet: Hodnota pH se zaznamenává na dvě desetinná místa.

3.2.3 Odhad obsahu rozpustné sušiny podle ČSN EN 12143 [16]

Princip: Obsah rozpustné sušiny se odhadne refraktometricky. Udává se v hmotnostních procentech sacharosy ve vodném roztoku, který má za daných podmínek stejnou refrakci jako analyzovaný výrobek. Někdy se hmotnostní procenta vyjadřují jako °Brix (1 °Brix odpovídá 1 % sacharosy). Refrakce je ovlivňována přítomností dalších rozpustných látek např. organických kyselin, minerálií a aminokyselin. Vzhledem k vysokému obsahu kyselin v citrusových šťávách a koncentrátech se při stanovení obsahu refraktometrické sušiny provádí korekce na obsah kyselin.

Použitelnost: Metoda se používá pro stanovení refraktometrické sušiny u všech ovocných a zeleninových šťáv.

Přístroje a pomůcky: Refraktometr.

Postup: Před měřením se zkontroluje nulová poloha refraktometru. Plochy hranolů se nejdříve důkladně vyčistí destilovanou vodou a vytřou do sucha. Na spodní hranol se nanese tyčinkou destilovaná voda, rozetře se, přiklopí se horní hranol a zabezpečí klíčem. Pak se nastavuje sklon hranolů tak, aby rozhraní světla a stínu bylo v průsečíku kříže. Nyní se nastaví stupnice přesně na nulu. Potom se hranoly znovu odklopí, vysuší, na spodní hranol se nanese malé množství vzorku a rozetře se po celé ploše hranolu. Po ustálení teploty (asi po 1 minutě) se odečte index lomu s přesností na čtyři desetinná místa (naš refraktometr umožnil odečtení na tři desetinná místa). Měření se provádí třikrát a vypočítá se aritmetický průměr.

Výpočet: K nalezenému indexu lomu se vyhledá v příloze v tabulce 1 odpovídající množství sušiny v hmotnostních procentech. U citrusových šťáv a koncentrátů se provádí korekce na obsah kyselin přičtením hodnoty vypočtené podle následujícího vztahu:

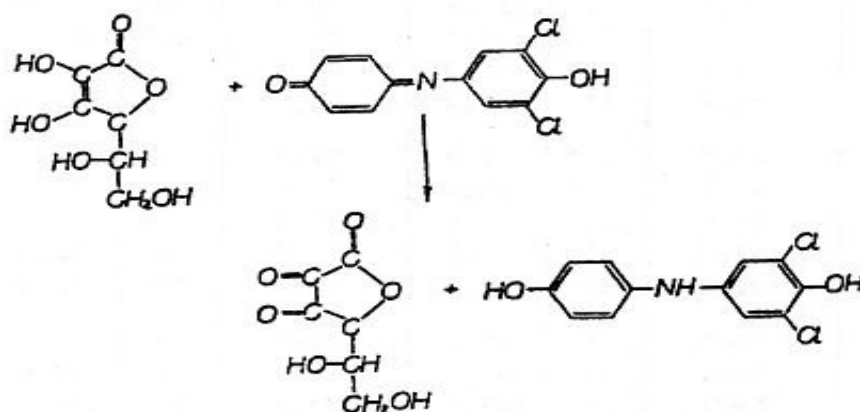
$$0,012 + 0,193 m - 0,0004 m^2$$

kde m je celkový obsah kyselin vyjádřený v gramech bezvodé kyseliny citronové podle ČSN EN 12147 (stanovení 3.2.4).

Přesnost: Absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou jednotlivých zkoušek, provedených na stejném zkušebním materiálu jedním pracovníkem, za použití stejného zařízení, v nejkratším možném časovém intervalu nemá přesáhnout hodnotu 0,15 °Brix.

Stanovení kyseliny L-askorbové titračně

Princip: Kyselina askorbová se titruje v prostředí kyseliny monohydrogenfosforečné odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu. Prvním přebytkem odměrného roztoku se vzorek zbarví do růžova. Reakce probíhá podle rovnice:



Použitelnost: Metoda je vhodná pro většinu potravinářských výrobků. Není však specifická a je rušena především látkami obsahujícími thiolové skupiny a reduktony. Jsou-li v roztoku přítomny ve vyšší koncentraci, je nutno pracovat podle speciálního pracovního postupu. Nejlepší výsledky dává metoda pro vzorky s nízkým obsahem kyseliny askorbové.

Chemikálie: Kyselina askorbová p. a., 2,6-dichlorfenolindofenol ($c = 0,001 \text{ mol.l}^{-1}$), 2% kyselina monohydrogenfosforečná.

Přístroje a pomůcky: Byreta, pipeta 10 ml, odměrné baňky 50 a 100 ml, titrační baňka.

Postup:

Standardizace odměrného roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu: K 1 ml standardního roztoku kyseliny askorbové (100 mg krystalické látky se rozpustí ve 100 ml odměrné baňce ve 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné – roztok je nestálý a připravuje se těsně před stanovením) se přidá 10 ml 2% roztoku kyseliny monohydrogenfosforečné a titruje se odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu do růžového zbarvení, které se nemění během 15 s. Provedou se tři titrace standardního roztoku kyseliny askorbové a vypočte se průměrná spotřeba. Potom se provede jedna titrace 10 ml 2% kyseliny monohydrogenfosforečné jako slepý pokus. Faktor, který udává počet mg kyseliny askorbové, kterým odpovídá 1 ml titračního činidla se vypočítá podle vztahu:

$$f = \frac{V_a}{V_b - V_c}$$

kde:

V_a je objem standardního roztoku kyseliny askorbové (1 ml),

V_b je spotřeba roztoku 2,6 -dichlorfenolindofenolu na 1 ml standardního roztoku v ml,

V_c je spotřeba roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu na slepý pokus v ml.

Vlastní stanovení: Provedou se tři titrace vzorku a vypočte průměrná spotřeba. Ze vzorku pomerančové šťávy se pipetuje 10 ml do odměrné baňky na 50 ml a doplní po značku destilovanou vodou. Z tohoto roztoku se pipetuje 10 ml do titrační baňky, přidá se 10 ml 2% kyseliny monohydrogenfosforečné a titruje se do růžového zbarvení, které se nemění 15 s, odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu.

Výpočet: Slepý pokus se odečte od průměrné spotřeby. Obsah kyseliny L-askorbové se vyjádří v $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ původního vzorku.

Přesnost: Maximální odchylka jednoho stanovení od průměru je $\pm 5 \%$.

3.2.4 Stanovení titrační kyselosti [11]

Princip: Titrační kyselost vyjadřuje obsah minerálních a organických kyselin a stanoví se potenciometrickou titrací standardním roztokem hydroxidu sodného do hodnoty pH 8,1.

Použitelnost: Normovaná metoda pro zjištění titrační kyselosti u ovocných a zeleninových šťáv.

Chemikálie: Hydroxid sodný ($c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), kyselina šťavelová dihydrát p.a., kalibrační roztoky k pH metru.

Přístroje a pomůcky: pH metr s přesností 0,01 jednotky pH, elektromagnetické míchadlo, byreta na 25 ml, pipeta 25 ml, odměrná baňka 100 ml, kádinka 50 ml.

Postup:

Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného: Nejprve se vypočte hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebná pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Vypočtené množství se diferenčně odváží s přesností na čtyři desetinná místa, kvantitativně se převede do odměrné baňky na 100 ml a doplní destilovanou vodou po značku. Z tohoto roztoku se pipetuje do titrační baňky přesně 10 ml, přidají se tři kapky roztoku fenolftaleinu a titruje se odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvalého růžového zbarvení. Titrace se provede třikrát a z průměrné spotřeby se vypočítá přesná koncentrace odměrného roztoku hydroxidu sodného.

Vlastní stanovení: 25 ml vzorku se pipetuje při 20°C do kádinky a titruje se za stálého míchání odměrným roztokem hydroxidu sodného do hodnoty 8,1. Titrace se provede třikrát, titrační kyselost se vypočítá z průměrné spotřeby.

Výpočet: Titrační kyselost vyjádřená v $\text{mmol } H^+$ na litr výrobku se vypočítá podle vztahu:

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0}$$

kde:

V_0 je objem vzorku při titraci (25 ml),

V_I je objem (ml) odměrného roztoku hydroxidu sodného a

c je přesná koncentrace (mol.l^{-1}) roztoku hydroxidu sodného.

Titrační kyselost může být vyjádřena také obvyklým způsobem jako obsah převažující kyseliny v gramech na litr výrobku vynásobením vztahu pro výpočet c_{H^+} faktorem pro odpovídající kyselinu. Převažující kyselinou u pomerančové šťávy je kyselina citrónová a její faktor je 0,064. Výsledek se uvádí na jedno desetinné místo.

Přesnost: Absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou jednotlivých zkoušek, provedených na stejném zkušebním materiálu jedním pracovníkem, za použití stejného zařízení, v nejkratším možném časovém intervalu nemá přesáhnout hodnotu $1,03 \text{ mmol H}^+.\text{l}^{-1}$.

3.2.5 Stanovení formolového čísla [13]

Princip: Po přidání roztoku formaldehydu do analytického vzorku se uvolní z každé přítomné molekuly aminokyseliny jeden ion H^+ . Tento ion je následně potenciometricky titrován roztokem hydroxidu sodného. Počet milimolů hydroxidu sodného spotřebovaného na jeden litr analytického vzorku se nazývá formolové číslo a udává celkový obsah aminokyselin (nereaguje sekundární aminoskupina histidinu a guanidinová skupina argininu, pouze částečně reagují sekundární aminoskupiny prolinu a hydroxyprolinu).

Použitelnost: Normovaná metoda pro zjištění celkového obsahu aminokyselin u ovocných a zeleninových šťáv.

Chemikálie: Hydroxid sodný ($c = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$), roztok formaldehydu o koncentraci 350 g.l^{-1} upravený za použití pH metru na pH 8,1 standardním roztokem hydroxidu sodného (roztok musí být připravován čerstvý v den použití), peroxid vodíku $w(\text{H}_2\text{O}_2) = 300 \text{ g.l}^{-1}$.

Přístroje a pomůcky: pH metr s přesností nejméně 0,05 pH, elektromagnetické míchadlo, byreta na 25 ml, pipeta 25 ml, odměrná baňka 100 ml, kádinka 50 ml

Postup: 25 ml analytického vzorku se v kádince upraví za stálého míchání roztokem hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ na pH 8,1. Přidá se 10 ml roztoku formaldehydu a stále se míchá. Nechá se 1 minutu ustát a pak se za stálého míchání titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného do pH 8,1. Pokud spotřebovaný objem přesáhne 20 ml, titrace se opakuje s 15 ml roztoku formaldehydu.

Výpočet: Formolové číslo v ml roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ na 100 ml analytického vzorku se vypočte podle vzorce:

$$\text{formolové číslo} = 10 \cdot n$$

kde:

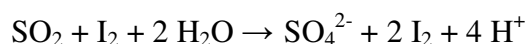
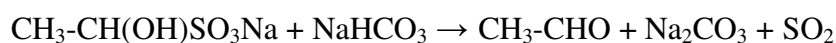
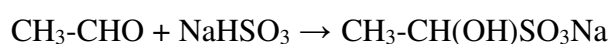
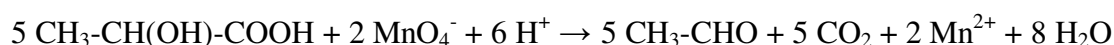
n je počet ml odměrného roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ spotřebovaného při titraci.

Opakovatelnost: Absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou jednotlivých zkoušek provedených na stejném zkušebním materiálu jedním pracovníkem, za použití stejného zařízení, v nejkratším možném intervalu nepřesáhne hodnotu opakovatelnosti r ve více než 5 % případů. Tato hodnota je:

$$r = 0,4 \text{ mmol NaOH/100 ml}$$

3.2.6 Stanovení kyseliny mléčné jodometricky [9]

Princip: Kyselina mléčná reaguje s manganistanem draselným na acetaldehyd, který se v předloze váže na siřičitan sodný. Vzniklý aldehydbisulfit se rozloží hydrogenuhličitanem sodným a uvolněný oxid siřičitý se stanoví jodometricky. Reakce probíhají podle následujících rovnic:



Použitelnost: Normovaná metoda pro stanovení kyseliny mléčné ve vínech.

Chemikálie: 10% wolframan sodný, kyselina sírová ($c = 0,33 \text{ mol.l}^{-1}$), 10% síran měďnatý, 10% suspenze hydroxidu vápenatého, roztok síranu manganatého (39 ml koncentrované kyseliny sírové a 25 g síranu manganatého se rozpustí v 250 ml vody), manganistan draselný ($c = 0,002 \text{ mol.l}^{-1}$), jod ($c = 0,025 \text{ mol.l}^{-1}$), jod ($c = 0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$, faktor), 0,5 % roztok škrobu, hydrogenuhličitan sodný, 1% hydrogensířičitan sodný (roztok nesmí být starší než týden).

Přístroje a pomůcky: Destilační přístroj pro stanovení kyseliny mléčné, odměrné baňky 50 ml, pipety 25 ml, 10 ml, 5 ml, filtrační aparatura, byreta, vývěva.

Postup: Ze vzorku se nejprve odstraní bílkoviny a cukry, které ruší stanovení. K 10 ml vzorku (podle obsahu kyseliny mléčné) se přidá v 50 ml odměrné baňce 10 ml 10% roztoku wolframanu sodného a 10 ml $0,33 \text{ mol.l}^{-1}$ kyseliny sírové, silně se protřepe, doplní se po značku a zfiltruje. Potom se odpipetuje 25 ml filtrátu opět do 50ml odměrné baňky, přidá se 10 ml 10% roztoku síranu měďnatého a 10 ml 10% suspenze hydroxidu vápenatého, důkladně se protřepe a nechá půl hodiny stát. Potom se doplní vodou po značku, promíchá a filtruje.

5 ml takto upraveného vzorku se napipetuje do destilační baňky přístroje, přidá se 10 ml roztoku síranu manganatého a 55 ml vody a pomalu se zahřívá za stálého chlazení a mírného prosávání vývěvou. Do předlohy se odměří asi 10 ml roztoku hydrogensířičitanu sodného a předloha se umístí tak, aby vývod z chladiče sahal pod hladinu roztoku hydrogensířičitanu. Při začínajícím varu se začne přikapávat do destilační baňky $0,002 \text{ mol.l}^{-1}$ manganistan draselný takovou rychlostí, aby se předcházející kapka odbarvila. Oxidace trvá asi 20 minut a konec reakce se projeví fialovým až hnědým zabarvením reakční směsi. Po ukončení reakce se přikapává ještě asi 5 minut roztok manganistanu draselného, potom se

předloha odpojí a vývod chladiče se opláchne vodou do předlohy. Obsah předlohy se kvantitativně přelije do titrační baňky, přidá se 1 ml škrobu a přebytek hydrogensířičitanu sodného se titruje roztokem škrobu ($c = 0,025 \text{ mol.l}^{-1}$). Konec titrace se dotitruje $0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$ roztokem jodu. Po skončení reakce se rozloží aldehydbisulfit přidáním 1g hydrogenuhličitanu sodného a znovu se titruje $0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$ roztokem jodu.

Výpočet: Ze spotřebovaného množství jodu ($c = 0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$) při II. titraci se vypočítá obsah kyseliny mléčné podle vztahu:

1 ml $0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$ jodu odpovídá 0,000225 g kyseliny mléčné.

Výsledek se uvádí v g.l^{-1} vzorku na jedno desetinné místo.

Přesnost: Rozdíl mezi výsledky dvou souběžných stanovení nemá být větší než $0,3 \text{ g.l}^{-1}$.

3.2.7 Stanovení aminokyselin automatickým analyzátozem [9]

Princip: Při stanovení aminokyselin v peptidech a proteinech je nutno vzorek nejprve hydrolyzovat kyselinou chlorovodíkovou ($c = 6 \text{ mol/l}$) 24 hodin při 110°C . Volné aminokyseliny je možné stanovit bez předchozí hydrolyzy, bílkoviny je však nutno předem odstranit např. kyselinou sulfosalicylovou.

K rutinnímu stanovení aminokyselin se používají automatické analyzátory, které pracují na principu iontové výměnné chromatografie. Jejich nejdůležitější součástí je chromatografická kolona naplněná katexem. Aminokyseliny jsou na kolonu zaváděny při nízkém pH ve formě kationtů a jsou poutány na povrchu katexu. Potom jsou postupně uvolňovány z povrchu katexu působením vhodných elučních roztoků (pufrů). Po eluci z kolony aminokyseliny reagují s ninhydrinem za vzniku červenofialového zbarvení, které se stanoví spektrofotometricky.

Použitelnost: Metoda má univerzální použití, pro stanovení vázaných aminokyselin se používají katexy v Na^+ cyklu a sodnocitronanové pufrы, pro stanovení volných aminokyselin se používají katexy v Li^+ cyklu a lithnocitronanové pufrы.

Chemikálie: Standardní roztok aminokyselin, standardní roztok asparaginu a glutaminu, ninhydrinové činidlo, lithiocitronanové pufrы pH 2,7; 3,0; 3,4; 4,0 a 4,6; ředicí pufr pH 2,2; roztok hydroxidu lithného ($c = 0,3 \text{ mol.l}^{-1}$).

Přístroje a pomůcky: Automatický analyzátor aminokyselin T 339 v režimu pro stanovení volných aminokyselin (katex LG FA, 5 lithiocitronanových pufrů), přístrojek na dávkování vzorku, kádinky, nálevka, filtrační papír se žlutou páskou, odměrná baňka 50 ml, pipety 5 ml.

Postup:

Příprava a dávkování standardního roztoku aminokyselin: Do odměrné baňky na 50 ml se pipetuje 5 ml komerčně dodávaného standardního roztoku aminokyselin a 5 ml standardního roztoku asparaginu s glutaminem a doplní se po značku ředicím pufrem. Takto připravený roztok obsahuje 250 nmol každé aminokyseliny v 1 ml a dává se pomocí dávkovacího přístrojku a injekční stříkačky do kazety tak, aby v kazetě nebyly žádné vzduchové bubliny. Naplněná kazeta se vloží do automatického dávkovače analyzátoru. Z kazety se v průběhu

analýzy odměří automaticky v kalibrované smyčce 0,1 ml, na kolonu tedy přichází 25 nmol každé aminokyseliny ze standardu.

Příprava a dávkování vzorku: 10 ml vzorku pomerančové šťávy se napipetuje do 50 ml odměrné baňky a doplní ředicím pufrům pH 2,2 po značku. Roztok se přefiltruje přes filtrační papír se žlutou páskou, čirý roztok se dává do kazety stejně jako standardní roztok aminokyselin a vloží se do automatického dávkovače analyzátoru za kazetu se standardem.

Výpočet: Množství jednotlivých aminokyselin ve vzorku se vypočítá na základě srovnání ploch píků standardu a vzorku.

Vzorový výpočet pro asparagin:

1433,1357 jednotek plochy 25 nmol Asn v 0,1 ml standardu

3727,4411 jednotek plochy x nmol Asn v 0,1 ml 5x ředěného vzorku

x = 65,02 nmol Asn v 0,1 ml 5x ředěného vzorku

v 1 litru 5x ředěného vzorku je 10 000x více, tj. 0,6502 mmol

v 1 litru neředěného džusu je $0,6502 \cdot 5 = 3,2511$ mmol

$m(\text{Asn}) = 3,2511 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot 132,104 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} = 429,4864 \text{ mg}$

V 1 litru pomerančové šťávy Toma bylo stanoveno 429,49 mg asparaginu.

Přesnost: Relativní směrodatné odchylky jednotlivých aminokyselin leží v rozmezí 1–9 %.

4 VÝSLEDKY

4.1 Stanovení relativní hustoty

Vážením byly naměřeny tyto hodnoty:

hmotnost prázdného pyknometru: $m_a = 31,6624$ g

hmotnost pyknometru s vodou: $m_b = 81,4267$ g

hmotnost pyknometru se vzorkem: $m_c = 83,6929$ g

Relativní hustota $d_{20^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}}$ vzorku se vypočte podle následujícího vzorce:

$$d_{20/20} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a}$$

kde:

- m_a je průměrná hmotnost prázdného pyknometru v gramech;
- m_b je průměrná hmotnost pyknometru naplněného vodou při 20°C v gramech;
- m_c je průměrná hmotnost pyknometru naplněného analytickým vzorkem při 20°C v gramech.

Relativní hustota $d_{20^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}}$ se vyjádří na čtyři desetinná místa.

$$d_{20/20} = \frac{m_c - m_a}{m_b - m_a} = \frac{83,6929 - 31,6624}{81,4267 - 31,6624} = 1,0455$$

Závěr:

Relativní hustota pomerančové šťávy Toma byla stanovena na **1,0455**. Požadavek na šťávu z koncentráту je dle současně platné normy ČSN 56 8541 **min. 1,045**, tudíž vzorek vyhovuje normě.

4.2 Stanovení kyseliny L-askorbové

Standardizace odměrného roztoku 2, 6 - dichlorfenolindofenolu

Titrace byla provedena třikrát a z těchto hodnot byl vypočítán aritmetický průměr.

číslo titrace	Spotřeba odměrného roztoku V_a (ml)
1. titrace	7,10 *
2. titrace	7,70
3. titrace	7,60
průměr	7,55

*hodnota nebyla započtena do průměru z důvodu odlehlosti od zbylých hodnot

Slepý pokus:

Titrace 10 ml 2% kyseliny monohydrogenfosforečné odměrným roztokem 2,6-dichlorfenolindofenolu:

V_c (slepý pokus) = 0,1 ml

Vlastní stanovení

Titrace byla provedena třikrát a z těchto hodnot byl vypočítán aritmetický průměr.

číslo titrace	Spotřeba odměrného roztoku V_b (ml)
1. titrace	4,95
2. titrace	5,00
3. titrace	4,90
průměr	4,95

Výpočet faktoru f , který udává počet mg kyseliny askorbové, kterým odpovídá 1 ml titračního činidla se vypočítá podle vztahu:

$$f = \frac{V_a}{V_b - V_c}$$

kde:

- V_a je objem standardního roztoku kyseliny askorbové (1 ml);
- V_b je spotřeba roztoku 2, 6-dichlorfenolindofenolu na 1 ml standardního roztoku v ml;
- V_c je spotřeba roztoku 2, 6-dichlorfenolindofenolu na slepý pokus v ml.

$$f = \frac{V_a}{V_b - V_c} = \frac{1}{4,95 - 0,1} = 0,2062 \text{ mg.ml}^{-1}$$

Slepý pokus se odečte od průměrné spotřeby na titraci vzorku 2, 6-dichlorfenolindofenolem:

$$4,95 - 0,1 = 4,85 \text{ ml}$$

Obsah kyseliny L-askorbové se vyjádří v mg.l^{-1} původního vzorku:

1 ml titračního činidla0,2062 mg kys. L- askorbové
4,85 ml tir. činidla.....x mg kys. L- askorbové
 $x = 1,0001 \text{ mg kys. L-askorbové}$

Obsah kyseliny askorbové v 10 ml 5krát zředěného vzorku se přepočítá na obsah v 50 ml:

1,0001 mg.....10 ml vzorku
 $m_{50 \text{ ml}}$ mg.....50 ml vzorku
 $m_{50 \text{ ml}} = 5,0005 \text{ mg}$

$$\text{K titraci bylo odebráno 10 ml vzorku } V_{\text{titr. vz.}} \Rightarrow c = \frac{m_{50 \text{ ml}}}{V_{\text{titr. vz.}}} = \frac{5,0005}{0,01} = 500,05 \text{ mg.l}^{-1}$$

Závěr:

Obsah kyseliny L-askorbové v pomerančové šťávě byl stanoven na **500,05 mg.l^{-1}** . Normovaný obsah kyseliny askorbové je **min. 200 mg.l^{-1}** , tudíž vzorek vyhovuje normě.

4.3 Stanovení kyseliny mléčné jodometricky

Ze spotřebovaného množství jodu ($c = 0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$) při druhé titraci se vypočítá obsah kyseliny mléčné podle vztahu:

1 ml $0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$ jodu odpovídá $0,000225 \text{ g}$ kyseliny mléčné.

Spotřeba $0,0025 \text{ mol.l}^{-1} \text{ I}_2$:

Titrace vzorku byla provedena třikrát, ze získaných hodnot byl vypočten průměr.

číslo titrace	Spotřeba $0,0025 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku I_2 (ml)
1. titrace	11,55 *
2. titrace	5,20
3. titrace	5,40
průměr	5,30

*hodnota nebyla započtena do průměru z důvodu odlehlosti od zbylých hodnot

1 ml $0,0025 \text{ mol.l}^{-1} \text{ I}_2$ $0,000225 \text{ g}$ kyseliny mléčné
 $5,30 \text{ ml } 0,0025 \text{ mol.l}^{-1} \text{ I}_2$ $x \text{ g}$ kyseliny mléčné
 $x = 1,1925 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ kyseliny mléčné

Obsah kyseliny mléčné v 1 litru vzorku:

$1,1925 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ kyseliny mléčné..... 10 ml vzorku
 $x \text{ g}$ kyseliny mléčné..... 1000 ml vzorku
 $x = 0,1193 \text{ g.l}^{-1}$

Závěr:

Obsah kyseliny mléčné ve vzorku byl stanoven na **$0,1193 \text{ g.l}^{-1}$** . Normovaný obsah kyseliny mléčné je max. **$0,5 \text{ g.l}^{-1}$** , tudíž vzorek vyhovuje normě.

4.4 Stanovení titrační kyselosti

Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného

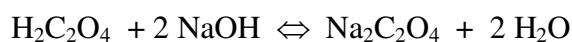
Navážená hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebné pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$:

$$m_{\text{kys.šťavelová}} = 1,2638 \text{ g}$$

Titrace vzorku byla provedena třikrát, ze získaných hodnot byl vypočten průměr.

číslo titrace	Spotřeba odměrného roztoku NaOH (ml)
1. titrace	8,20
2. titrace	8,05
3. titrace	8,10
průměr	8,12

Reakce probíhá podle rovnice:



$$M_{\text{kys. šťáveľová}} = 126,07 \text{ g/mol}$$

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{m_{\text{kys. šťáveľová}}}{5M_{\text{kys. šťáveľová}} \cdot V_{\text{NaOH}}} = \frac{1,2638}{5 \cdot 126,07 \cdot 0,00812} = 0,2469 \text{ mol.l}^{-1}$$

Vlastní stanovení - potenciometrická titrace

Titrace byla provedena třikrát a z těchto hodnot byl vypočítán aritmetický průměr.

číslo titrace	Spotřeba odměrného roztoku NaOH (ml)
1. titrace	13,15
2. titrace	13,20
3. titrace	13,15
průměr	13,17

Titrační kyselost vyjádřená v mmol H^+ na litr výrobku se vypočítá podle vztahu:

$$c_{\text{H}^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c_{\text{NaOH}}}{V_0}$$

kde:

- V_0 je objem vzorku při titraci (25 ml);
- V_1 je objem (ml) odměrného roztoku hydroxidu sodného;
- c je přesná koncentrace (mol.l^{-1}) roztoku hydroxidu sodného.

$$c_{\text{H}^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c_{\text{NaOH}}}{V_0} = \frac{1000 \cdot 13,17 \cdot 0,2469}{25} = 130 \text{ mmol.l}^{-1}$$

Titrační kyselost může být vyjádřena také obvyklým způsobem jako obsah převažující kyseliny v gramech na litr výrobku vynásobením vztahu pro výpočet c_{H^+} faktorem pro odpovídající kyselinu. Převažující kyselinou v pomerančové šťávě je kyselina citronová. Její faktor 0,064.

$$c_{\text{kys. citronová}} = c_{\text{H}^+} \cdot 0,064 = 130 \cdot 0,064 = 8,3 \text{ g.l}^{-1}$$

Závěr:

Titrační kyselost pomerančové šťávy Toma byla stanovena na **130 mmol.l⁻¹** a obsah kyseliny citronové na **8,3 g.l⁻¹**. Obsah kyseliny citronové je dle normy ČSN 56 8541 v rozmezí **6,3–17,0 g.l⁻¹** a titrační kyselost je dle ČSN EN 12147 v rozmezí **72–222 mmol.l⁻¹**. Pomerančová šťáva v obou případech normě vyhovuje.

4.5 Stanovení hodnoty pH

Měření bylo provedeno třikrát, ze získaných hodnot byl vypočten průměr.

číslo měření	Spotřeba odměrného roztoku NaOH (ml)
1. měření	3,61
2. měření	3,61
3. měření	3,62
průměr	3,613

Závěr:

Hodnota pH byla stanovena na **3,61**. Normovaná hodnota pH je v rozmezí **2,90–3,90**. To znamená, že pomerančová šťáva vyhovuje normě.

4.6 Stanovení formolového čísla

Formolové číslo v ml roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ na 100 ml analytického vzorku se vypočte podle vzorce:

$$\text{formolové číslo} = 10 \cdot n$$

kde:

- n je počet ml odměrného roztoku hydroxidu sodného $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ spotřebovaného při titraci.

Titrace byla provedena třikrát a z těchto hodnot byl vypočítán aritmetický průměr.

číslo titrace	Spotřeba odměrného roztoku NaOH (ml)
1. titrace	1,95
2. titrace	1,90
3. titrace	1,95
průměr	1,93

Přepočet objemu $0,2469 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku hydroxidu sodného na $0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ roztok hydroxidu sodného:

1,93 ml..... $0,2469 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$

x ml..... $0,25 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$

x = 1,9576 ml

formolové číslo = $10 \cdot 1,9576 = 19,6 \text{ ml } 0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH} / 100 \text{ ml vzorku}$

Závěr:

Formolové číslo pomerančové šťávy Toma bylo stanoveno na **19,6 ml** $0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH} / 100 \text{ ml}$. Normované formolové číslo je **15–26 ml** $0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH} / 100 \text{ ml}$. To znamená, že pomerančová šťáva vyhovuje normě.

4.7 Odhad obsahu rozpustné sušiny

Měření bylo provedeno třikrát, ze získaných hodnot byl vypočten průměr

číslo měření	<i>Refraktometricky stanovený index lomu</i>
1. měření	1,3500
2. měření	1,3500
3. měření	1,3500
Průměr	1,3500
Obsah sacharosy:	11,40 %

korekce na obsah kyselin: $m = 8,3 \text{ g}$

$$0,012 + 0,193m - 0,0004m^2 = 0,012 + 0,193 \cdot 8,3 - 0,0004 \cdot 8,3^2 = 1,59$$

obsah sušiny: 12,99 %

Závěr:

Obsah rozpustné sušiny v pomerančové šťávě Toma byl stanoven na **13,0 %**. Normovaný obsah sušiny je **min. 10 %**. To znamená, že pomerančová šťáva normě vyhovuje.

4.8 Stanovení aminokyselin metodou AAA

Množství jednotlivých aminokyselin ve vzorku se vypočítá na základě srovnání ploch píků standardu a vzorku. Analýza vzorku byla provedena dvakrát.

Vzorový výpočet pro asparagin:

1433,1357 jednotek plochy 25 nmol Asn v 0,1 ml standardu

3727,4411 jednotek plochy x nmol Asn v 0,1 ml 5x ředěného vzorku

$$x = 65,02 \text{ nmol Asn v } 0,1 \text{ ml } 5x \text{ ředěného vzorku}$$

v 1 litru 5x ředěného vzorku je 10 000x více, tj. 0,6502 mmol

v 1 litru neředěného džusu je $0,6502 \cdot 5 = 3,2511 \text{ mmol}$

$$m(\text{Asn}) = 3,2511 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot 132,104 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} = 429,4864 \text{ mg}$$

V 1 litru pomerančové šťávy Toma bylo stanoveno 429,49 mg asparaginu.

Obsah ostatních aminokyselin byl vypočítán stejným způsobem.

Tabulka 4.8.1 : Naměřené a vypočtené hodnoty stanovovaných aminokyselin

<i>AK</i>	<i>AK standard</i> (mV·s)	<i>1. měření</i> (mV·s)	<i>2. měření</i> (mV·s)	<i>Obsah AK (1)</i> (mg.l ⁻¹)	<i>Obsah AK (2)</i> (mg.l ⁻¹)	<i>Průměr</i> (mg.l ⁻¹)	<i>Norma</i> (mg.l ⁻¹)	<i>V/N</i>
<i>Asp</i>	2685,6571	5517,6187	5409,5912	341,8032	335,1112	338,4572	200–400	V
<i>Thr</i>	2519,9907	259,6967	305,8879	15,3438	18,0729	16,7084	10–50	V
<i>Ser</i>	2801,4243	3879,1499	3950,3658	181,8916	185,2308	183,5612	105–210	V
<i>Asn</i>	1433,1357	3727,4411	3835,0098	429,4864	441,8808	435,6836	225–660	V
<i>Glu</i>	3083,5416	2053,4251	2094,2118	122,4746	124,9073	123,6910	75–205	V
<i>Pro</i>	358,7956	2321,2804	2293,6471	931,0791	919,9952	925,5371	450–2090	V
<i>Gly</i>	3082,1307	651,6736	615,2507	19,8380	18,7292	19,2836	10–25	V
<i>Ala</i>	3023,6886	3041,7954	2851,7623	112,0243	105,0257	108,5250	60–205	V
<i>Val</i>	2773,7958	377,0962	334,1413	19,9078	17,6401	18,7739	10–30	V
<i>GABA</i>	2300,7371	7002,0391	7011,2014	392,2929	392,8062	392,5496	180–500	V
<i>Lys</i>	3784,6365	724,2217	623,1139	34,9688	30,0869	32,5278	20–65	V
<i>His</i>	3331,8383	196,5606	211,4466	11,3678	12,2287	11,7983	5–25	V
<i>Arg</i>	3988,0638	15068,9785	17976,3094	822,8294	981,5818	902,2056	400–1000	V
<i>Ea</i>	2051,5151	990,7200	704,1905	36,8686	26,2057	31,5372	max. 36,6	V
<i>NH₃</i>	2045,2831	2120,9512	2028,3196	22,0673	21,1035	21,5854	max. 25,5	V

V – vyhovuje, N - nevyhovuje

Závěr:

Obsah aminokyselin v pomerančové šťávě Toma a jejich normované hodnoty udává *Tabulka 4.8.1*. Pomerančová šťáva vyhovuje normě.

4.9 Shrnutí výsledků analýz

Výsledky všech provedených analýz uvádí *Tabulka 4.9.1*.

Tabulka 4.9.1: Souhrn výsledných hodnot jednotlivých stanovení

<i>Název stanovení</i>	<i>Stanovené hodnoty</i>	<i>Normované hodnoty</i>	<i>N-nevyhovuje V-vyhovuje</i>
<i>Stanovení relativní hustoty</i>	1,0455	min. 1,045	V
<i>Stanovení hodnoty pH</i>	3,61	2,90–3,90	V
<i>Odhad obsahu rozpustné sušiny</i>	13,00%	min. 10 %	V
<i>Stanovení kyseliny L-askorbové</i>	500,05 mg.l ⁻¹	min. 200 mg.l ⁻¹	V
<i>Stanovení titrační kyselosti</i>	130 mmol H ⁺ /l	72–222 mmol H ⁺ /l	V
<i>Stanovení formolového čísla</i>	19,6 ml	15–26 ml	V
<i>Stanovení kyseliny mléčné</i>	0,1193 g.l ⁻¹	max. 0,5 g.l ⁻¹	V
Stanovení AAA:			
<i>Asp</i>	338,4572 mg.l ⁻¹	200–400 mg.l ⁻¹	V
<i>Thr</i>	16,7084 mg.l ⁻¹	10–50 mg.l ⁻¹	V
<i>Ser</i>	183,5612 mg.l ⁻¹	105–210 mg.l ⁻¹	V
<i>Asn</i>	435,6836 mg.l ⁻¹	225–660 mg.l ⁻¹	V
<i>Glu</i>	123,691 mg.l ⁻¹	75–205 mg.l ⁻¹	V
<i>Pro</i>	925,5371 mg.l ⁻¹	450–2090 mg.l ⁻¹	V
<i>Gly</i>	19,2836 mg.l ⁻¹	10–25 mg.l ⁻¹	V
<i>Ala</i>	108,525 mg.l ⁻¹	60–205 mg.l ⁻¹	V
<i>Val</i>	18,7739 mg.l ⁻¹	10–30 mg.l ⁻¹	V
<i>GABA</i>	392,5496 mg.l ⁻¹	180–500 mg.l ⁻¹	V
<i>Lys</i>	32,5278 mg.l ⁻¹	20–65 mg.l ⁻¹	V
<i>His</i>	11,7983 mg.l ⁻¹	5–25 mg.l ⁻¹	V
<i>Arg</i>	902,2056 mg.l ⁻¹	400–1000 mg.l ⁻¹	V
<i>Ea</i>	31,5372 mg.l ⁻¹	max. 36,6 mg.l ⁻¹	V
<i>NH₃</i>	21,5854 mg.l ⁻¹	max. 25,5 mg.l ⁻¹	V

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo ověření kvality, identity a pravosti pomerančové šťávy Toma z obchodní sítě na základě vybraných chemických parametrů.

Porovnáním stanovených hodnot s hodnotami normovanými lze dospět k závěru, že pomerančová šťáva Toma vyhovuje požadavkům legislativy, tj. absolutním požadavkům na kvalitu i požadavkům na identitu a autenticitu.

6 LIERATURA

- [1] ČSN 56 8541: *Ovocné a zeleninové šťávy – Pomerančová šťáva*. Praha: Český normalizační institut, 2001.
- [2] Kolektiv: *Food Authenticity*. Frankfurt 2000.
- [3] Evropská unie: AIJN Code of Practise. *Confructa studie*. EU, 35, 1991, s. 10 - 36.
- [4] Louis Drayfus Commodities. *Citrus Brochure English* [online]. Dostupné z: <http://www.ldcommodities.com/index.php?id=1234>
- [5] Večerková, H.: *Cesta pomerančů ze stromu do sklenice* [online]. 2000, leden [cit. 26. 1. 2000]. Dostupné z: <http://ekonomika.idnes.cz/test.asp?r=test&c=2000M021T05A>
- [6] Dobiáš, J.: *Technologie zpracování ovoce a zeleniny II – provizorní učební text* [online]. Praha 2004. Dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/OZ/zelenina_2.pdf
- [7] Suhaj, M., Kováč, M.: Metody identifikácie falšovania a autentifikácie potravín, *Bulletin potravinárskeho výskumu*, ročník 38, č. 4, strana 203 – 222, 1999.
- [8] The Codex Secretariat, FAO: *Understanding the Codex Alimentarius* [online]. 3rd ed., Rome 2006. Dostupné z: ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/understanding/Understanding_EN.pdf
- [9] Hrstka, M., Vespalcová, M.: *Praktikum z analytické chemie potravin*. Brno 2006.
- [10] Davídek, J., a kolektiv: *Laboratorní příručka analýzy potravin*. Praha: STNL, 1977.
- [11] Kadlec, P., a kolektiv: *Technologie potravin 1*. Praha: VŠCHT, 2002.
- [12] ČSN EN 1132: 1996. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení hodnoty pH*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [13] ČSN EN 1133: 1996. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení formolového čísla*. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [14] ČSN EN 1131: 1996. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení relativní hustoty*. Praha: Český normalizační institut, 1996
- [15] ČSN EN 12147: 1997. *Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení titrační kyselosti*. Praha: Český normalizační institut, 1997.
- [16] ČSN EN 12143: 1997. *Ovocné a zeleninové šťávy – Odhad obsahu rozpustné sušiny – Refraktometrická metoda*. Praha: Český normalizační institut, 1997.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AIJN	Asociace výrobců ovocných šťáv a nektarů (Association of the Industries of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Economic Community)
EEC	Evropské hospodářské společenství (European Economic Community)
HFS	Kukuřičný sirup s vysokým obsahem fruktosy (high fructose corn sirupe)
BMIS	Řepný středně invertovaný sirup (beet medium invert sirup)
RSK	Německý svaz (Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen)
AFNOR	Francouzská normalizační asociace (Association Francise de normalisation)
AAS	Atomová absorpční spektrometrie
NAD	Nikotinamidadenindinukleotid
NADP	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NADH	Redukovaná forma nikotinamidadenindinukleotidu
NADPH	Rredukovaná forma nikotinamidadenindinukleotidfosfátu
GABA	γ -aminomáselná kyselina
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
GC	Plynová chromatografie
HPAEC – PAD	Vysokoučinná aniontová chromatografie s pulsní amperometrickou detekcí (high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection)
IRMS	Hmotnostní spektrometrie izotopových poměrů (Isotope ratio mass spectrometry)
SNIF-NMR	Přirozená frakcionace izotopů pomocí nukleární magnetické resonance (Site-Specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic Resonance)

MDGC	Multi-dimensionální systém plynové chromatografie (Multi Dimensional Gas Chromatography)
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP- AES	Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Inductively coupled plasma-atomic emission spektrometry)
PCR	Polymerázová řetězová reakce (Polymerase chain reaction)