SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

XLVI. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

23.-25. 5. 2016

Skalský Dvůr

Karel Cejpek
Editor

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT v Praze
Výykumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Praha 2016

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou.
Za obsah příspěvků odpovídají autoři.
© Karel Cejpek, 2016
ISBN 978-80-86909-12-7 (Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.)
ISBN 978-80-7080-968-6 (Vysoká škola chemicko-technologická v Praze)
ISSN 1802-1433

Obsah

R – referaty
P – postery

	Str.	
R1	**7**	**J. Pokora, V. Válková:** AACS – příspěvek Evropské komise pro potírání podvodů v potravinářství
R2	**8**	**P. Havelec, S. Ondroušek:** Úloha Celně technické laboratoře při kontrole potravin se zvláštním zaměřením na využití izotopových metod
R3	**9**	**Čížková H., Kvasnička F.:**Faktory ovlivňující spolehlivost používaných markerů autenticity a falšování potravin
R4	**13**	**D. Hezinová:** Falšování potravin a případy řešené SVS v rámci systému AACS
R5	**13**	**H. Vinšová, D. Titěra:** Cesty vedoucí k produkci falšovaného medu
R6	**14**	**Brát J., Dostálová J.:** Je palmový olej v potravinách levnou náhražkou?
R7	**23**	**Konířová, M.:** Z historie falšování potravin v českých zemích
R8	**26**	**Panovská Z., Ilko V., Doležal M., Fléglová A.:** Senzorické hodnocení nových sladidel
R9	**30**	**Cejpek K., Bánovská V.:** Reaktivní karbonylové sloučeniny ve sladidlech a slazených nápojích
R10	**34**	**Kružík V., Šístková I., Čížková H.:** Bifenyly, možná příčina smyslové vady nealkoholického nápoje
R11	**39**	**Prchalová J., Rajchl A.:** Hodnocení kvality a autenticity jednodruhových bylliných čajů
R12	**43**	**Kouřimská L., Dresslerová I., Sus J.:** Porovnání vybraných kvalitativních parametrů jablek z ekologické a integrované produkce
R13	**48**	**Neradová E., Zíková A., Kvasnička F., Čížková H.:** Charakterizace botanicky odlišných druhů borůvek a posouzení autenticity borůvkových džemů z tržní sítě
R14	**53**	**Baeva E., Synytsya A., Čopíková J.:** Fruiting bodies of cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus*: composition and strain variability
R15	**54**	**Ratkoš M., Cejpková Z.:** Merck Millipore - příprava laboratorní vody s láskou .....
R16	**55**	**Sedliaková M., Tenkl L.:** Aplikace FT-NIR spektroskopie v potravinářství
R17	**56**	**Švec I., Hrušková M.:** Sledovaní barvy těstovin – vliv mouky a receptury
R18	**61**	**Hrušková M., Švec I.:** Trvanlivé pečivo – netradiční receptury a nutriční přínos sušenek
R19	**66**	**Dostálová J., Brát J.:** Obsah soli v pekařských výrobcích, šunkách, sýrech a v obloženém pečivu
R20	**70**	**Saláková A., Kameník J., Vyskočilová, V., Pechová A**.: Sůl, sodík a masné výrobky
R21	**75**	**Škorpilová T., Skřivánek A., Pipek P.:** Možnosti snížení sodných iontů v masných výrobcích
R22	**79**	**Zdeňková K., Koncošová M., Akhatová D. a Demnerová K.:** Autentifikace a kvantifikace komerčně významných druhů masa pomocí DNA analýzy
R23	**83**	**Revenco D., Vomáčková M., Jírů M., Stránská M., Koplík R.:** Speciace selenu v mikroskopických řasách obohacených selenem
R24	**84**	**Pudil f.:** Vlastnosti málo známých bylin z českých farmářských trhů
R25	**93**	**Doležal M., Matějková K. , Ilko V. , Brát J., Dostálová J.:** Výskyt trans mastných kyselin v potravinách na českém trhu
R26	**98**	**Matějková K., Ondřejková Z., Doležal M., Dostálová J.:** Složení tuku vybraných dehydratovaných výrobků
P1	**104**	**Blanka Zábrodská, Ivana Borkovcová, Lenka Vorlová:** Zhodnocení jakosti medů od českých včelařů
P2	**108**	**Kružík V., Vápenka L., Škorpilová T., Zíková A., Čížková H.:** Charakterizace majoritních vonných látek řepkových medů pomocí plynové chromatografie s olfaktometrickým detektorem

P3	**113**	**Shevtsova T., Bleha R., Kyselka J., Synytsya A., Brindza J., Brovarskyi V., Filip V.:** Beebread as food product: microbial background, microscopic and spectroscopic evaluation
P4	**119**	**Prchalová J., Dvořáková Z., Kovařík F., Rajchl A.:** Využití techniky dart/tof-ms pro hodnocení kvality a autenticity kakaových výrobků
P5	**124**	**Kružík V., Helísková H., Brožová E., Průchová K., Grégrová A., Čížková H.:** Chemická a smyslová charakteristika aroma jahodových sirupů
P6	**128**	**Haubeltová A., Tuma P., Ševčík R., Čížková H.:** Změny těkavých látek během výroby jablečných koncentrátů
P7	**132**	**Mikulíková R., Svoboda Z., Benešová K., Běláková S.:** Stanovení obsahu gliadinu v pivu
P8	**133**	**Pinkrová J., Bohačenko I.:** Modifikovaná HPLC metoda s RI detekcí na stanovení obilných β-(1-3),(1-4)-D-glukanů
P9	**138**	**Pančíková B., Sluková M., Skřivan P.:** Porovnání účinků mletí na strukturu a vlastnosti mouk
P10	**141**	**Jirsa O., Vaculová K., Sedláčková I.:** Hodnocení vlivu máčení na vlastnosti nahého ječmene
P11	**144**	**Pexová Kalinová J., Bigasová V.:** Merlíkové klíčky – potravina s vysokou antioxidační aktivitou
P12	**148**	**Svoboda Z., Mikulíková R., Pluháčková H., Běláková S., Benešová K.:** Analýza rostlinných silic použitelných k fortifikaci potravinářských výrobků
P13	**149**	**Ilko V., Gábriková M., Panovská Z., Doležal M.:** Chemické a organoleptické vlastnosti česneků na českém trhu
P14	**154**	**Štefanová I., Kubec R.:** Významné sirné metabolity česneku sicilského (*Nectaroscordum siculum*)
P15	**158**	**Vápenka L., Plánička T., Kružík V., Dobiáš J.:** Studium migrace složek papírových obalových materiálů do potravin a potravinových simulantů
P16	**162**	**Hauser J., Pudil F.:** Hemolytická aktivita čeledi Čirůvkovitých
P17	**168**	**Pudil F.:** Aromatické látky čerstvých hub
P18	**171**	**Kupcová K., Kubec R.:** Biologicky aktivní sirné sloučeniny houževnatce jedlého
P19	**177**	**Bednář J., Tesař Z., Macharáčková B.:** Obsah sodíku ve vybraných pochutinách
P20	**182**	**Petra Průšová, Jaromír Seidl, Jaroslav Hofmann, Helena Čížková:** Systém dohledu a kontroly celní správou české republiky a ochrana trhu s potravinami
P21	**188**	**Šnirc M., Fekete T., Bobková A.:** Vytvorenie vhodného genetického markera pre autentifikáciu prídavku jačmeňa v káve arabica
P22	**191**	**Fekete T., Šnirc M., Bobko M.:** Autentifikácia bryndze end-point PCR metódou
P23	**192**	**Pospiech M., Gavlasová L., Saláková A., Tremlova B., Kameník J., Javůrková Z.:** Průkaz tuku v masných výrobcích obrazovou analýzou
P24	**197**	**Kabátová N., Šulová R.:** Stanovení obsahu morfinu v makovině metodou HPLC

MERCK

voda jak ji potřebujete

Zařízení pro přípravu laboratorní vody

www.merckmillipore.cz, www.merckmillipore.sk

R 1

AACS – PŘÍSPĚVEK EVROPSKÉ KOMISE PRO POTÍRÁNÍ PODVODŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ

J. Pokora, V. Válková
SZPI Brno

Aféra s koňským masem v roce 2013, kdy bylo koňské maso vydáváno za maso hovězí, ukázala na fakt, že členské státy Evropské unie nemají nástroj, kterým by vzájemně mohly rychle a efektivně komunikovat v případě podvodů v potravinách s přeshraničním dopadem. Systém RASFF, který je primárně určen pro přenos informací o nebezpečných potravinách a krmivech, není koncipovaný pro přenos informací o podvodech v potravinách. Evropská komise proto v listopadu 2015 spustila on-line systém Správní pomoci a spolupráce (Administrative Assistance and Cooperation System - AACS), kterým mají být informace o podvodech v potravinovém řetězci mezi členskými státy předávány, aby mohly být naplňovány požadavky Hlavy IV SPRÁVNÍ POMOC A SPOLUPRÁCE V OBLASTI KRMIV A POTRAVIN Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004 o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat. Národní kontaktní místo pro on-line systém AACS je na Státní zemědělské a potravinářské inspekci.

R 2

ÚLOHA CELNĚ TECHNICKÉ LABORATOŘE PŘI KONTROLE POTRAVIN SE ZVLÁŠTNÍM ZAMĚŘENÍM NA VYUŽITÍ IZOTOPOVÝCH METOD

P. Havelec, S. Ondroušek
CTL, Generální ředitelství cel, Praha

Celně technická laboratoř Generálního ředitelství cel je součástí Ministerstva financí ČR a jejím úkolem je technická podpora při řešení problémů souvisejících s fiskální politikou státu a to zvláště v oblasti cel, spotřebních daní, DPH, dotační politiky, ochraně trhu EU a ochraně duševního vlastnictví. CTL se tedy nezaměřuje přímo na kontrolu kvality potravin, tyto kompetence patří jiným orgánům státní správy, ale provádí kontrolu v souvislosti s celními předpisy EU a zákony ČR, které souvisejí s volným pohybem zboží, ochraně spotřebitele a daňovou politikou státu.

Z nejvýznamnějších úkolů v oblasti potravin lze jmenovat kontrolu spotřebních daní u alkoholických nápojů a tabáku, zjišťování botanického a geografického původu zboží, padělání potravin a kontrolu výrobků, které jsou podezřelé z chybné deklarace.

Z nejvýznamnějších kauz poslední doby, které řešila CTL jsou to podvodné vývozy a dovozy cukru z EU do třetích zemí, dovozy falšovaných ovocných výrobků a meziproduktů, zneužití denaturovaného lihu při výrobě alkoholických nápojů, kauza Methyl a dovoz syntetických drog a anabolických steroidů deklarovaných jako potravinové doplňky. CTL také řeší průběžně ochranu duševního vlastnictví v souvislosti s paděláním obalů, etiket, dokumentů a ochranných prvků u vybraných druhů potravin.

Již 20 let CTL pro kontrolu potravin využívá vedle klasických metod analýzy majoritních a minoritních komponent i isotopovou analýzu. Ta poskytuje jedinečné a těžko zfalšovatelné informace o původu potravin a to jak botanickém, tak i geografickém. Jedná se konkrétně o isotopovou analýzu lehkých isotopů jako jsou vodík, uhlík, kyslík a případně i dalších prvků. Vzájemný poměr isotopů těžkých vůči lehkým daného prvku je v přírodě přibližně konstantní. A právě na to „přibližně“ se lze zaměřit pomocí systémů jako je SNIF-NMR (Site Specific Isotopic Fractionation Nucleic Magnetic Resonance)a IRMS (Isotopic Ratio Mass Spectrometry), kterými CTL disponuje a každodenně používá.

V přírodě funguje celá řada fyzikálních, chemických i biologických procesů (tzv. isotopová frakcionace), které zmíněný poměr pozmění a tím uloží informaci o původu do samotné molekuly. Díky tomu je možné odlišit např.:

- zda ethanol obsažený v lihovině pochází z kukuřice, brambor, obilí, hroznového vína, zemního plynu
- zda voda obsažená ve víně je opravdu z vína nebo z vodovodu
- zda cukr obsažený v citrusové šťávě je opravdu z deklarovaného citrusu nebo byl přidán jako cukr třtinový či řepný

Podobných aplikací je celá řada, nicméně jejich použitelnost a relevance je svázána s databází isotopových hodnot pro různé prvky, látky a různé suroviny těchto látek. Bez takovéto hodnověrné databáze se interpretace isotopových analýz nedá provést. Kompletní isotopová analýza nespočívá v prostém změření obsahu isotopů, ale z celé řady nezbytných úkonů jako jsou: příprava vzorku, oddělení sledované látky, úprava finálního vzorku před měřením, kontrola každého kroku přípravy (prevence možné isotopové změny složení sledované látky), správa databáze isotopových dat, finální interpretace výsledků pro konkrétní vzorek.

CTL se podílí a podílela na celé řadě národních i mezinárodních projektů, které využívají možností, zkušeností a vybavení v oblasti isotopových analýz.

R 3

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ SPOLEHLIVOST POUŽÍVANÝCH MARKERŮ AUTENTICITY A FALŠOVÁNÍ POTRAVIN

Čížková H., Kvasnička F.
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav konzervace potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Vývoj, ověření a aplikace metod hodnocení autenticity potravin a detekce falšování představuje v současnosti jeden z aktuálních směrů jištění kvality. Zároveň se jedná o trvalý souboj s velmi kompetentní protistranou těch nepoctivých výrobců, kteří jsou schopni velmi rychle postup falšování zdokonalit nebo nahradit tak, aby nebyl stávající metodou zjistitelný.

Trendy ve falšování podle komodit je možno vyhodnotit na základě četnosti publikací v odborných databázích (např. Web of Knowledge, SciFinder, FSTA, ScienceDirect); zastoupení se v tomto případě dlouhodobě příliš nemění, výjimečně se objevují nové případy, které obvykle vycházejí ze změn legislativy a z dostupnosti a změn ceny surovin a produktů na trhu. Aktuální kauzy falšování potravin, bohužel ne zcela systematicky, reflektují i ostatní media (noviny, časopisy, blogy, zprávy státních i privátních agentur). V tomto případě se však data liší podle místa zdroje a aktuální situace v dané zemi nebo podle kauz s větším než regionálním dopadem.

Falšování je motivováno ekonomickým profitem, a proto jsou nejčastěji falšovány drahé až luxusní potraviny (koření, přírodní aromata, extra panenský olivový olej, víno) nebo naopak potraviny, které jsou prodávány ve velkých objemech (ryby, rostlinné oleje, mléko a mléčné výrobky). Jako příklad jsou v Tabulce 1 shrnuty nejčastěji falšované/na falšování náchylné potraviny (podle dvou nezávislých zdrojů).

Tabulka 1: Nejčastěji falšované potraviny nebo potraviny podezřelé z falšování, shrnuto podle Johnson R., 2014

	USP Food Fraud Databáze 1980-2012	EU Report Top 10 product at risk of food fraud 2013
1	Rostlinné oleje	Olivový olej
2	Koření	Ryby
3	Mléko	Bio potraviny
4	Sladidla	Mléko
5	Ovocné šťávy a koncentráty	Obilniny
6	Přírodní aromata	Med a javorový sirup
7	Ryby a plody moře	Káva a čaj
8	Obilniny, luštěniny	Koření
9	Víno, alkoholické nápoje	Víno
10	Výrobky z mléka	Ovocné šťávy

Při vývoji a ověřování nových analytických postupů a rozšiřování možností posouzení autenticity rychleji, přesněji a levněji je třeba nezapomínat na spolehlivost zvolených markerů autenticity. Pod spolehlivostí markeru se skrývá především představa stabilního chemického parametru (složky, souboru látek), charakteristického pro autentický výrobek nebo naopak indikujícího konkrétní způsob falšování, odolného vůči odchylkám od běžného stavu (např. netradiční suroviny, receptury, zeměpisný původ). Zvolený marker je spolehlivý, pokud při jeho použití pro zhodnocení autenticity výrobku bude, i v případě odchylky, závěr správný. Výsledkem posouzení spolehlivosti je informace o tom jaké parametry (vlivy, faktory) mohou být kritické a vyžadují případnou kontrolu.

Základní požadavky na konkrétní marker autenticity (falšování) jsou:

1. nízká přirozená variabilita jeho obsahu v surovinách

2. jedinečnost (přítomnost pouze ve sledované složce potraviny)
3. stabilita během výroby a skladování finálního výrobku
4. dostupnost vhodné analytické metody a její spolehlivost pro kvantifikaci markeru

Na konkrétním příkladu poměru přirozených izotopů $^{2}H/^{1}H$ octa je dále v textu rozpracována metodika posouzení spolehlivosti s ohledem na výše uvedené základní požadavky.

KONKRÉTNÍ PŘÍKLAD: IDENTIFIKACE PŘÍDAVKU SYNTETICKÉ KYSELINY OCTOVÉ DO OCTA

Falšování octa

Cílem práce je zhodnocení postupu používaného na identifikaci octa záměrně znehodnoceného (falšovaného) zředěnou syntetickou kyselinou octovou. Podle příslušné komoditní vyhlášky (č. 335/1997 Sb.) se rozumí kvasným octem okyselující potravina vyrobená výlučně biologickým procesem kysání lihu obohaceného živinami za pomoci octových bakterií; kvasným octem lihovým kvasný ocet vyrobený kysáním kvasného lihu pocházejícího ze škrobnatých nebo cukerných surovin. Základní složkou octa je kyselina octová, její obsah musí být podle příslušných chemických požadavků maximálně 10 %. V České republice je k výrobě octa používán zejména rafinovaný líh (je možno použít i líh surový) vyrobený ze surového lihu melasového, bramborového nebo obilného, přičemž k výrobě octa není povoleno využití lihu syntetického. Přestože ocet nepatří mezi majoritní komodity, jeho falšování významně poškozuje jak poctivé výrobce, tak spotřebitele. Navíc existuje nebezpečí, že použitá, ale na etiketě výrobku neoznačená, syntetická kyselina octová nebude splňovat podmínky na potravinářské aditivum a bude obsahovat zdravotně závadné doprovodné látky pocházející z ropné suroviny.

Poměry stabilních izotopů

Pro průkazné ověření rostlinného původu kyseliny octové se používají izotopové metody založené na stanovení poměru stabilních izotopů základních stavebních prvků organických látek (především $^{2}H/^{1}H$, $^{13}C/^{12}C$, $^{18}O/^{16}O$). Zjištění izotopových poměrů a následné porovnání se standardy umožňuje určit botanický, geografický a biologický nebo syntetický původ kyseliny.

Původ kyseliny octové je „přirozený“, pokud jsou její prekurzory (cukry a alkohol) biologického původu. Lze očekávat nízké (u výrobků z C3-rostlin od 90 do 100 ppm) až střední (pro výrobky z C4-rostlin cca 110 ppm) hodnoty $^{2}H/^{1}H$ poměru (methylové skupiny) kyseliny octové kvasného původu; kyselina octová získaná chemickou syntézou se vyznačuje vyšší hodnotou daného poměru (od 130 do 140 ppm). Hodnoty $\delta^{13}C$ se pro ocet kvasného původu pohybují od -30 do -10 ‰; pro syntetickou kyselinu octovou průměrně -34 ‰. Pro účely určení zdroje přidané pitné vody a tedy místa produkce octa, případně kontroly zda byla voda do výrobku přidána (což není povoleno kupříkladu u balzamikového octa), se hodnotí poměry stabilních izotopů kyslíku $^{18}O/^{16}O$, jejichž hodnoty se např. pro střední Evropu pohybují v rozsahu -10 ‰ to -8 ‰.

Faktory ovlivňující spolehlivost $^{2}H/^{1}H$ poměru jako markeru autenticity

Na základě literárních údajů je nutné v případě identifikace a kvantifikace nepovoleného přídavku syntetické kyseliny octové do kvasného octa zohlednit, v souladu s výše uvedeným, faktory mající předpokládaný vliv na získané výsledky (tj. na zvolený marker autenticity – $^{2}H/^{1}H$, Tabulka 2).

Tabulka 2: Charakteristika jednotlivých faktorů

Faktor	Diskuse a zhodnocení
Přirozená variabilita jeho obsahu v surovinách	Jelikož jsou izotopové metody metodami relativními, je nezbytné získaná data porovnávat se známými databázovými či literárními hodnotami pro autentické vzorky. Z tohoto důvodu je možné využít zjištěné hodnoty stabilních izotopů vybraných chemických prvků pro vyloučení hypotézy konkrétního původu, ale ne pro predikci charakteristiky vzorku neznámého (tj. v dostupné databázi neuvedeného) původu. Literární údaje uvádějí poměrně široký rozsah v závislosti na botanickém původu (od 90 do 110 ppm, viz výše). Zatímco jednotlivá chemická průmyslově vyráběná individua bývají ve složení i z pohledu izotopového rozptylu velmi homogenní, biologickou cestou vzniklé složky jsou značně variabilní. Odchylka může být velká, a správné určení původu vzorku závisí na dostupnosti, kvalitě a rozsahu existující databáze autentických vzorků. A tak zatímco zhodnocení autenticity vinného nebo balzamikového octa vzhledem k rozsáhlé evropské a celosvětové databází poměru přirozených izotopů vína a doporučeným postupům analýzy není problém, informace k ostatním druhům octa (včetně kvasného lihového) jsou v literatuře kusé.
Přítomnost pouze ve sledované složce potraviny	Isotopy vodíky se samozřejmě vyskytují i v syntetické kyselině octové; jejich opět poměrně velká variabilita je způsobena různými způsoby její výroby. V úvahu přichází jak ve světě nejběžnější výroba postupem karbonylace metanolu, tak další postupy založené na přímé oxidaci uhlovodíků pocházejících z fosilních a rostlinných zdrojů a bakteriální oxidaci syntetického lihu. Tomu odpovídají i různé hodnoty $^{2}H/^{1}H$ (od 124 do 137 ppm) zjištěné Remundem et al. (1992).
Spolehlivost analytické metody	Ztráta přesnosti izotopové analýzy má oproti běžným analytickým metodám jedinečnou příčinu, hmotnostní diskriminaci, která vede k izotopické frakcionaci neodpovídající poměru přirozených izotopů původního vzorku. Z tohoto důvodu se jako zásadní jeví ověření a validace metody, při kterém musí být prokázáno, že buď k izotopové frakcionaci během přípravy vzorku nedochází, nebo je možno ji při interpretaci opakovatelně zohlednit. Mezilaboratorního porovnání analýzy octa 11 evropských laboratoří poskytlo navzdory výše uvedenému velmi uspokojivé výsledky s průměrnou reprodukovatelností $^{2}H/^{1}H$ 1,62 ppm.
Stabilita	Změny v izotopovém poměru 2H/1H během výroby a skladování octa nejsou v literatuře popsány, lze však opět očekávat určitou míru izotopové frakcionace.

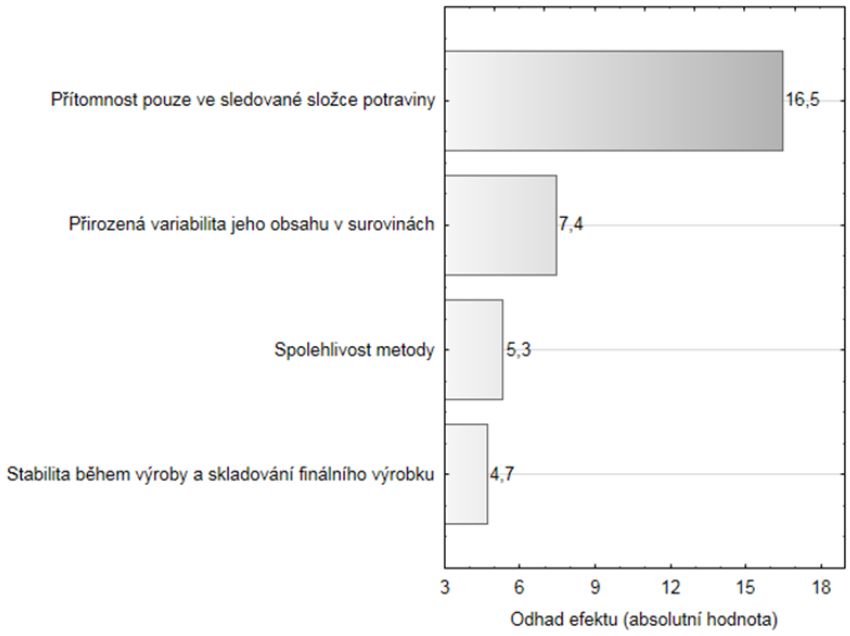
Testování faktorů

Při ověřování spolehlivosti postupu hodnocení autenticity výrobku je možno využít vícerozměrnou analýzu dat, která se obvykle používá pro hodnocení robustnosti analytické metody v rámci validačního protokolu. Robustnost metody vůči malým změnám je testována na základě plánovaných experimentů (DOE); cílem plánování experimentů je nalezení těch faktorů, které nejvíce ovlivňují hodnocený znak systému, případně je současně hledána optimální hodnota těchto faktorů.

Pro zhodnocení vlivu jednotlivých faktorů na celkovou robustnost izotopového poměru $^{2}H/^{1}H$ kvasného octa pro průkaz falšovaného octa nedeklarovaným přídavkem syntetické kyseliny octové byl v této studii použit úplný faktoriální experiment 2^4. Paretův graf (Obr. 1) efektů jednotlivých faktorů na robustnost poměrů přirozených izotopů pro průkaz přídavku syntetické kyseliny octové do kvasného lihového octa vychází z výše uvedených skutečností; umožňuje oddělit podstatné faktory od méně podstatných. Na ose x jsou znázorněny absolutní hodnoty efektů. Pro poměr $^{2}H/^{1}H$ jsou statisticky významné ($p<0,05$) následující 2 faktory: přítomnost pouze v kvasném lihovém octu (16,5; $p<0,001$) a přirozená variabilita jeho obsahu v surovinách (7,4; $p=0,02$). Relativní celková nejistota stanovení, bez koeficientu rozšíření, v tomto případě odpovídá absolutní hodnotě součtu statisticky významných efektů, tj. 23,9 %.

Přestože dosažení přesné kvantifikace nebo vyšší citlivosti metody není s ohledem na vysokou přirozenou variabilitu zastoupení 2H/1H v octu a výskyt v dalších surovinách možné, zůstává tento finančně, časově i instrumentálně náročný postup společně s analýzou izotopového poměru $^{13}C/^{12}C$ jedinou možností pro odhalení nedeklarovaného přídavku syntetické kyseliny octové do octa.

Obrázek 1: Vliv jednotlivých faktorů na robustnost poměru přirozených izotopů $^{2}H/^{1}H$ jako markeru přídavku syntetické kyseliny octové do octa



ZÁVĚR

Posouzení spolehlivosti zvolených markerů autenticity a tím i spolehlivosti celého postupu hodnocení zda je výrobek autentický nebo falšovaný není bohužel v řadě laboratoří samozřejmé a ani oficiální metody nebo postupy v odborné literatuře někdy všechny možné vlivy na interpretaci výsledků nezohledňují. Přitom poznání jednotlivých faktorů a tedy i základní znalost surovin a technologie vedle znalosti kritických míst vlastní laboratorní metody, může významně zvýšit odborné kompetence komerčních, kontrolních a výzkumných laboratoří, které vybrané postupy pro hodnocení autenticity potravin používají.

Literatura:

1. Congressional Research Service (2014). Food Fraud and “Economically Motivated Adulteration” of Food and Food Ingredients, Edited by Renée Johnson, 2014
2. HPLC: Validace metody - HPLC: Robustnost. http://www.hplc.cz/Validace/robustnost.html, staženo 29.7.2016.
3. Grégrová, A., Mazáč, J., Čížková, H.: Hodnocení robustnosti markerů autenticity potravin: Kritický přehled se zaměřením na izotopový poměr 2H/1H kyseliny octové, Chem. Listy 2016, 110, 263–268.
4. Grégrová A., Čížková H., Mazáč J., Voldřich M.: Authenticity and quality of spirit vinegar: Methods for detection of synthetic acetic acid addition, J. Food and Nutr. Res. 2012, 51, 123-131.
5. Meier-Augenstein, W.: Stable Isotope Analysis: General Principles and Limitations; John Wiley & Sons, 2009.
6. Moore, J.; Spink, J.; Lipp, M.: Development and Application of a Database of Food Ingredient Fraud and Economically Motivated Adulteration from 1980 to 2010. J. Food Sci. 2012, 77 (4), 118–126.
7. Remaud, G., Guillou, C., Vallet, C., Martin, G. J.: A coupled NMR and MS isotopic method for the authentication of natural vinegars. Fresenius J. Anal. Chem. 1992, 342 (4-5), 457-461).
8. Thomas, F.; Jamin, E.: 2H NMR and 13C-IRMS analyses of acetic acid from vinegar, 18O-IRMS analysis of water in vinegar: International collaborative study report. Anal. Chim. Acta 2009, 649 (1), 98–105.

R 4

FALŠOVÁNÍ POTRAVIN A PŘÍPADY ŘEŠENÉ SVS V RÁMCI SYSTÉMU AACS

D. Hezinová
Ústřední veterinární správa SVS, Praha

V rámci úředních kontrol zaměřených na falšování potravin živočišného původu a podvody v potravinách živočišného původu s přeshraničním dopadem se Státní veterinární správa v roce 2015 připojila k celoevropskému systému správní pomoci a spolupráce (AACS). Státní veterinární správa odlišuje případy falšování potravin, tedy případy bez zdravotního rizika, a případy s dopadem na zdravotní nezávadnost a bezpečnost potravin s přeshraničním rozsahem, jejichž šetření je vedeno odděleně v systému RASFF. Pokud jde o oblast podvodů v potravinách, mezi často falšované komodity živočišného původu patří např. med, maso a masné výrobky, ryby a produkty rybolovu. Přehled a příklady řešených případů za r. 2015 a za první třetinu r. 2016, jejichž šetření bylo v kompetenci SVS, plně koresponduje s výše uvedeným a poskytuje vhled do jedné z částí dozorové činnosti Státní veterinární správy.

R 5

CESTY VEDOUCÍ K PRODUKCI FALŠOVANÉHO MEDU

H. Vinšová, D. Titěra
Výzkumný ústav včelařský, s.r.o., Dol

Med je čistě přírodní produkt, který včely medonosné získávají z nektaru či medovice. Jedná se o potravinu složenou převážně z jednoduchých cukrů (fruktózy a glukózy) a vody. Kvalita medu je hodnocena podle vyhlášky 76/2003 Sb. Podle této vyhlášky platí, že do medu nesmějí být přidány žádné jiné látky.

Současným největším problémem kvality medu je porušování jeho autenticity. Neexistuje však univerzální metoda pro rutinní kontrolu kvality medu, pomocí níž bychom byli schopni s dostatečnou citlivostí a robustností ověřit jeho pravost.

Spotřeba medu stále vzrůstá a je v ČR asi 800 g na 1 osobu ročně. To může vést některé výrobce ke snahám zvyšovat produkci medu rozmanitým nastavováním. Do medu bývá během zpracování přidávána voda, nepřirozené cukerné látky a barviva.

Cizí cukry mohou být v medu ve formě sacharózy, hydrolyzátů sacharózy nebo škrobu. Nepřirozené cukerné látky se mohou do medu dostat dvěma cestami – při zpracování sklizeného medu, nebo předtím nadměrným krmením včelstev.

V obou případech je někdy problém tento přídavek rozpoznat, protože parametry kvality u takto upraveného medu v principu odpovídají. Barva medu se pohybuje v celé škále barev od vodojasné u akátových medů až po téměř tmavě hnědé u medů medovicových. U nás jsou dnes oblíbenější medy tmavší, ale bohužel světlých medů je více. Často poptávka po tmavém medu převyšuje nabídku a vede výrobce k jeho obarvení umělými barvivy.

Dalším způsobem falšování medu je přikrmování včelstev tekutými krmivy v průběhu snůšky. Včely tento chovatelem přidaný sirup smíchají se svými přirozenými zdroji a včelař si tak uměle zvyšuje výnos medu, který je ale falšovaným produktem. Tato cesta není omezena zákonem, ale je v rozporu se správnou včelařskou praxí.

Zvyšuje se zájem včelařů o účast v dobrovolných projektech, které vyzdvihují autenticitu a kvalitu produkce.

R 6

JE PALMOVÝ OLEJ V POTRAVINÁCH LEVNOU NÁHRAŽKOU?

Brát J.[1], Dostálová J.[2]
[1)] Česká technologická platforma pro potraviny, Počernická 96/272, 108 03 Praha 10 - Malešice
[2)] Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Skladba tuků ve stravě je důležitá

Problematika palmového oleje patří mezi aktuální témata často se objevující v médiích. Zájem veřejnosti se mnohonásobně zvýšil v souvislosti s rozsáhlými požáry, které se nekontrolovaně šířily v Indonésii koncem roku 2015. Palmový olej bývá nazýván skrytým či levným zabijákem. Nadměrná spotřeba nasycených mastných kyselin negativně ovlivňuje hladinu cholesterolu v krvi, což následně zvyšuje rizika srdečně cévních onemocnění. Podle výživových doporučení bychom neměli konzumovat více nasycených mastných kyselin než 10 % z celkového příjmu energie. To představuje přibližně množství 20 g pro osobu se střední fyzickou aktivitou při denním doporučeném příjmu energie 2000 kcal. Nasycené mastné kyseliny konzumujeme v České republice v nadbytku. Osvěta ve veřejnosti, jaké tuky konzumovat přednostně a jaké omezovat je potřeba. Nicméně palmový olej netvoří v české populaci hlavní zdroj příjmu nasycených mastných kyselin. Palmový olej je hodně démonizován a negativní účinky jeho konzumace na lidské zdraví zveličovány.

Palmový olej a jeho složení

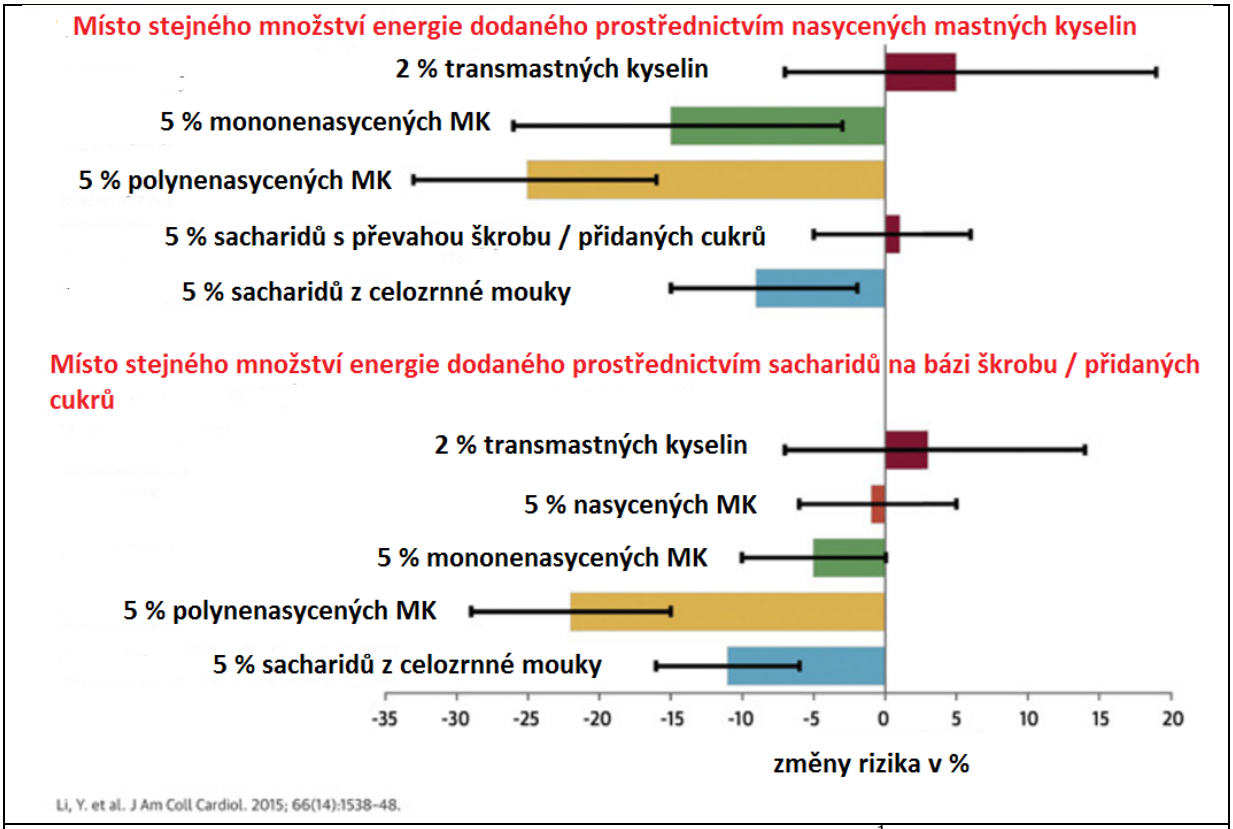
Palmový olej obsahuje okolo 50 % nasycených mastných kyselin s převahou kyseliny palmitové, dále 40 % mononenasycené kyseliny olejové a 10 % kyseliny linolové z řady omega 6 polynenasycených mastných kyselin. Z jader plodů palmy olejné se získává palmojádrový tuk, který má vyšší podíl nasycených mastných kyselin (82 %), hlavní nasycenou mastnou kyselinou je kyselina laurová (48 %), dále obsahuje 14 % kyseliny olejové a 4 % kyseliny linolové. Běžný spotřebitel neví, že palmový olej se může dále zpracovávat frakcionací, což je jednoduchý fyzikální separační proces. Tuk se zahřeje nad bod tání a následně zchladí a vznikající krystaly se oddělí od kapalné fáze. Tímto způsobem vzniknou další dvě rozdílné suroviny „stearin“ a „olein“ s odlišnými vlastnostmi i složením mastných kyselin. Proces frakcionace lze zopakovat v případě stearinu ještě jednou a v případě oleinu i dvakrát. Z původního palmového oleje vznikne široké portfolio produktů. Každá frakce se více hodí k jiným účelům. Všechny tyto složky jsou na obale potravin označeny jako palmový olej, případně palmový tuk. Označení „tuk“ je přesnější, protože palmový olej je za pokojové teploty tuhý, totéž platí i pro většinu jeho frakcí. Jako palmový olej/tuk může být označen i palmojádrový tuk, i když někteří výrobci tyto dva druhy tuků ve složení rozlišují. Nařízení EU č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům vyžaduje nově u olejů doplnění rostlinného původu, což je v případě palmového oleje a všech jeho frakcí, stejně jako palmojádrového tuku palma olejná, původ je tedy „olej/tuk palmový“.

Jak poznat vhodné složení mastných kyselin ve výrobcích?

Z údajů o složení potravin včetně informace, že výrobek obsahuje palmový olej nelze proto dělat závěry o výživové hodnotě daného výrobku. K tomu slouží výživové údaje na obale. V současné době najdeme na většině potravin informaci o celkovém obsahu tuku a nasycených mastných kyselin. Od prosince 2016 budou muset být údaje o výživové hodnotě, pouze s několika výjimkami, na všech výrobcích. Vydělíme-li obsah celkového obsahu tuku obsahem nasycených mastných kyselin a dostaneme-li hodnotu podílu vyšší než 3, má daný výrobek příznivé složení mastných kyselin. Čím je hodnota podílu nižší, o to více bychom měli konzumaci dané potraviny omezovat. Při vyšším obsahu tuku a pravidelné, opakující se konzumaci může potravina s méně vhodným složením tuku přispívat k vyššímu příjmu nasycených mastných kyselin ve stravě. Nezáleží na tom, zda nasycené mastné kyseliny pocházejí z palmového tuku, živočišných nebo jiných tropických tuků. Výjimku tvoří mastné kyseliny s počtem atomů uhlíku do deseti, které nepůsobí negativně.

Náhrada nasycených mastných kyselin nenasycenými

V posledních výživových doporučeních se objevuje nový prvek. Ukazuje se, že obdobně rizikový jako nadměrný příjem nasycených mastných kyselin je i zvýšená konzumace přidaného cukru. Studie Harvardské university publikovaná koncem září 2015 názorně dokumentuje záměnu jednotlivých živin z pohledu vlivu na zdraví. Je zároveň i vysvětlením, proč některé metaanalýzy, které sledovaly konzumaci nasycených mastných kyselin odděleně od zbytku stravy, nedospěly k očekávaným závěrům jejich negativního působení na některé rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění. Jak ukazuje obr. 1, nahrazení nasycených mastných kyselin ve stravě nenasycenými výrazně snižuje rizika vzniku ischemické choroby srdeční a patří k nejúčinnějším změnám v rámci stravovacích návyků s dopadem na lidské zdraví, zatímco záměna nasycených mastných kyselin za sacharidy na bázi škrobu nebo přidaných cukrů prospěch nepřináší[1]. Toto nebývá často správně pochopeno a u laické veřejnosti i některých výživových poradců ovlivněných internetem bývá nadměrná konzumace nasycených mastných kyselin často bagatelizována. Obrázek zároveň názorně ukazuje, že konzumace transmastných představuje nejvyšší rizika z hlediska vzniku ischemické choroby srdeční.



Obr. 1. Změna rizika vzniku ICHS při substituci jednotlivých živin[1]

Tuky a oleje v doporučeních pro obyvatele USA 2015

Různé potraviny obsahují živiny, které mohou mít pozitivní i negativní vliv na lidské zdraví. Důležitá jsou konzumovaná množství a velikost porcí. Výživová doporučení z poslední doby již nejsou vydávána jako v minulosti pouze pro jednotlivé živiny, ale jsou více koncipována na bázi potravin. Každých 5 let v kulatých a půlkulatých ročnících vychází nová výživová doporučení pro obyvatele USA. Poslední doporučení byla zveřejněna v lednu 2016 a jsou k dispozici na vládním portálu USA[2]. Strategie omezovat příjem nasycených mastných kyselin pod 10 % z celkového příjmu energie zůstala nezměněna i v tomto dokumentu, ale i zde byla zdůrazněna důležitost snižovat jejich nadměrnou konzumaci prostřednictvím zvýšeného příjmu zejména polynenasycených mastných kyselin.

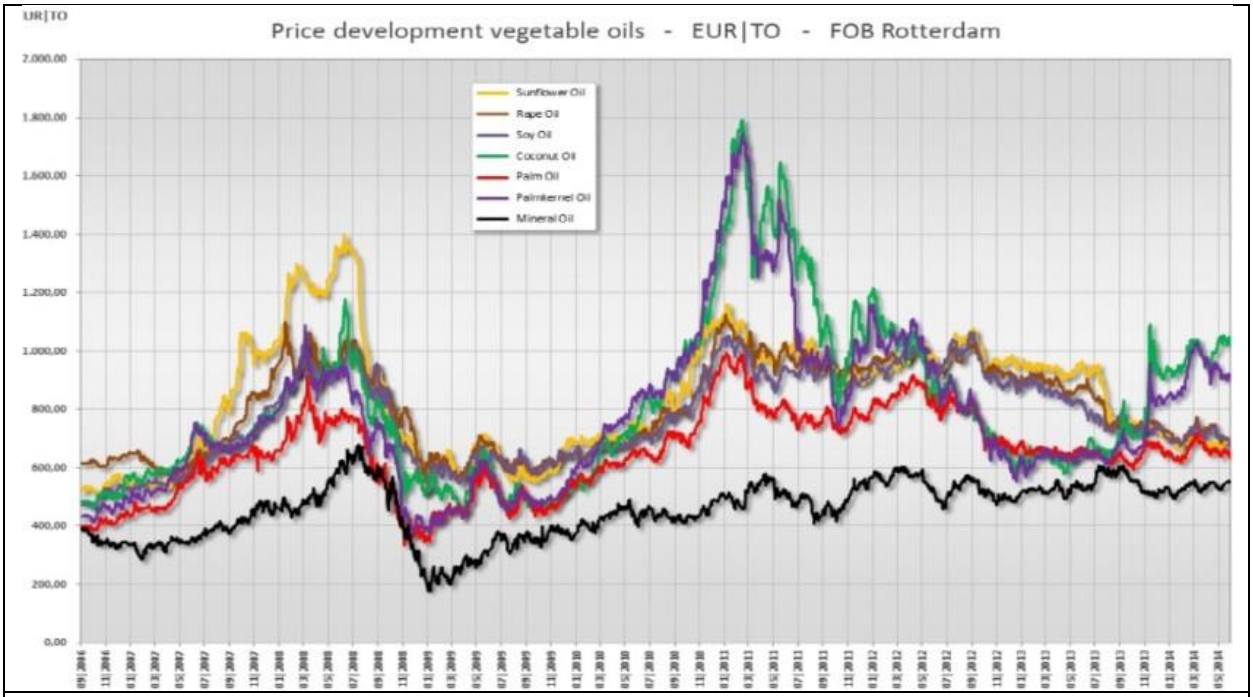
Americká doporučení mají jednu specifickou zvláštnost spočívající ve zjednodušeném dělení tuků na dvě skupiny: „pevné tuky“ a „oleje“. Ne všechny pevné tuky jsou v rámci tohoto rozdělení pevného skupenství a ne všechny oleje jsou kapalné, jak bychom očekávali. Z hlediska komunikace ke spotřebiteli z pohledu výživy je to však dobré, snadno zapamatovatelné zjednodušení.

Omezovat pevné tuky a nahrazovat je oleji

Mezi „pevné tuky“ se řadí všechny živočišné tuky kromě rybího tuku (máslo, lůj, sádlo, kuřecí tuk), rostlinné oleje vyrobené hydrogenací, tropické tuky jako kokosový tuk nebo palmový olej, margariny balené ve folii a pokrmové tuky. Mezi potraviny s vysokým obsahem pevných tuků patří: plnotučné sýry, smetana, plnotučné mléko, zmrzlina, maso s mramorovanou strukturou tuku, běžné mleté hovězí maso, slanina, klobásy, drůbeží kůže a řada výrobků z kategorie jemného a trvanlivého pečiva vyrobených s použitím pevných tuků. Mezi „oleje“ se počítají různé druhy olejů rostlinných (řepkový, olivový, slunečnicový, sójový), dále i rybí tuk a plody bohaté na rostlinné oleje jsou např. olivy, ořechy, avokádo, ale i výrobky s vyšším podílem olejů jako jsou kvalitní majonézy, dresinky, margariny balené v kelímku a tekuté margariny za předpokladu, že neobsahují částečně ztužené tuky a tím i transmastné kyseliny. Pevné tuky by měly být ve stravě omezovány a nahrazovány oleji.

Cena palmového oleje

Palmový olej bývá často prezentován jako laciná náhražka. Ceny olejů se vyvíjejí v čase a podléhají různým vlivům. Palmový olej patří mezi lacinější, ale jak ukazuje obr. 2, nemusí být vždy nejlevnější. Vývoj cen rostlinných olejů ovlivňuje i vývoj cen ropy.



Obr. 2. Dlouhodobý vývoj cen olejů

Ceny rostlinných olejů se po roce 2007, kdy se oleje začaly ve větší míře používat na výrobu biopaliv, významně zvýšily a ve srovnání s rokem 2000 jsou dnes 2,5 až 3,5 krát vyšší. Palmojádrový tuk, který podle legislativy může být na výrobcích potravin deklarován jako palmový, patří dokonce k nejdražším. Má podobné vlastnosti jako kokosový a spolu s ním má podobný cenový vývoj. V roce 2015 došlo díky suchu k propadu výnosu palmového oleje a počátkem roku 2016 k jeho silnému zdražení. Rozdíl mezi cenami řepkového a palmového oleje je v druhém čtvrtletí 2016 menší než 100 EUR. Dle dlouhodobé předpovědi by se měl rozdíl mezi palmovým a řepkovým oleje pohybovat okolo 27 EUR za tunu, což není významný rozdíl na to,

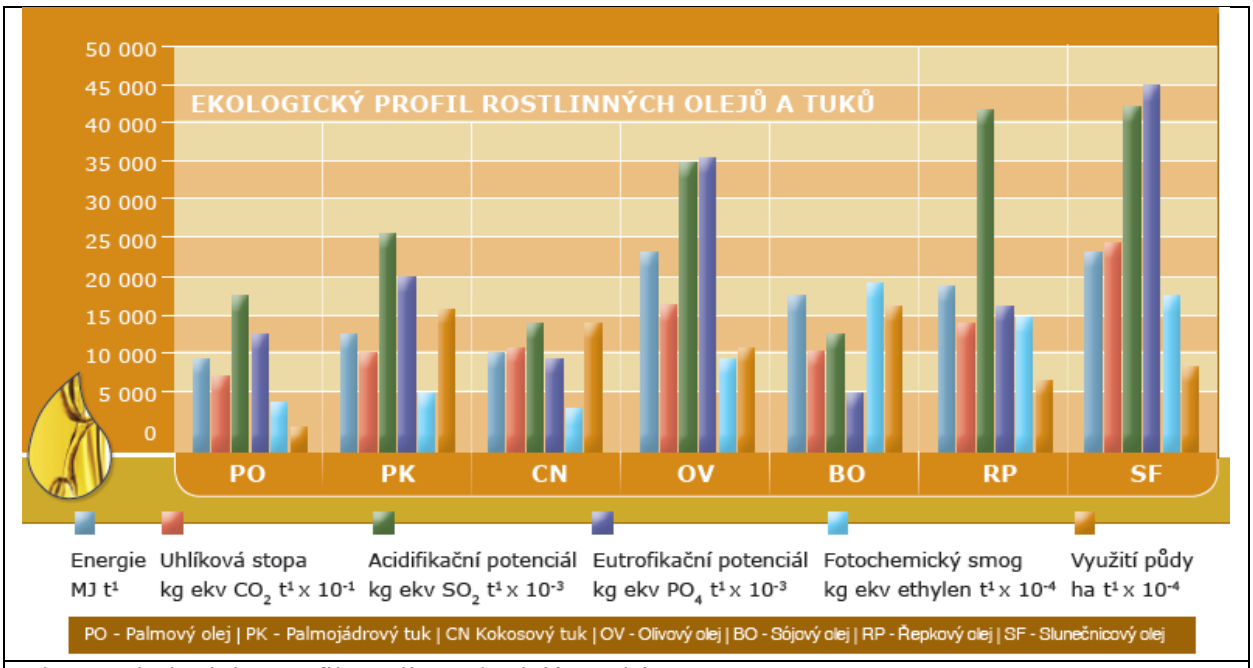
abychom mohli tvrdit, že je palmový olej lacinou náhražkou. Výrobci často používají ve svých produktech různé frakce palmového oleje. Frakcionace je dodatečný technologický proces zpracování olejů, má svoje výrobní náklady, což se projeví i v ceně za tyto speciální oleje. Výrobci, kteří z důvodu společenské odpovědnosti a firemní politiky k životnímu prostředí nakupují palmový olej z udržitelných zdrojů, rovněž platí vyšší cenu za tuto surovinu.

Role palmového oleje v potravinách

Cena není tedy tím hlavním důvodem, proč je palmový olej vyhledávanou surovinou v potravinářském průmyslu. Jednotlivé frakce palmového oleje a palmojádrový tuk se výrazně liší svým složením, ale tím i funkčními vlastnostmi souvisejícími s různým bodem tání a dynamikou krystalizace. Každá z frakcí se používá k jiným účelům a výrobcům se nabízí širší výběr materiálů. Kapalné oleiny se používají na smažení, vyznačují se velmi dobrou tepelnou stabilitou. Stearíny či některé střední frakce oleinů, palmojádrový tuk, které jsou za pokojové teploty tuhé, plní ve výrobcích roli strukturního tuku, tvoří součást i dehydratovaných výrobků nebo polev. Výrobky mají homogenní konzistenci, nehrudkují se. Palmový tuk je surovinou i pro kojeneckou výživu. Palmitová kyselina je hlavní komponentou, jak tuku mateřského mléka, tak i palmového tuku. V mateřském mléce je prioritně esterově vázána na druhé pozici glycerolu. Palmový olej slouží jako zdroj kyseliny palmitové a technologie výroby je vedena způsobem, aby složení kojenecké výživy včetně proporcionálního zastoupení mastných kyselin v jednotlivých pozicích na glycerolu se co nejvíce podobalo složení mateřského mléka. Palmový olej nahradil v řadě potravin v minulosti hojně užívané částečně ztužené tuky s vysokým podílem transmastných kyselin. Negativní dopad transmastných kyselin na zdraví je v dnešní době již nezpochybnitelný. Po omezení příjmu transmastných kyselin volají odborné společnosti. Co nejnižší příjem je součástí všech výživových doporučení. Problematikou se zabývala i Evropská komise, která vydala v prosinci 2015 dlouho očekávanou zprávu týkající se transmasných kyselin[3]. Ve zprávě se konstatuje, že většina potravinářských výrobků v rámci Evropské unie obsahuje transmastné kyseliny v množství nižším než 2 g ve 100 g tuku. Zpráva však také ukazuje, že stále existuje řada potravin s vysokým podílem transmastných kyselin (nad 2 g na 100 g tuku) zvláště v některých evropských zemích a některých druzích potravin. Existují skupiny obyvatelstva, které mohou být ohroženy vysokým příjmem transmastných kyselin. Palmový olej je poměrně rozšířenou surovinou v řadě potravin, nicméně průměrná konzumace palmového oleje se pohybuje v řádu několika gramů denně a palmový olej není nejvýznamnějším zdrojem příjmu nasycených mastných kyselin v české populaci. Více nasycených mastných kyselin konzumujeme stále z živočišných tuků.

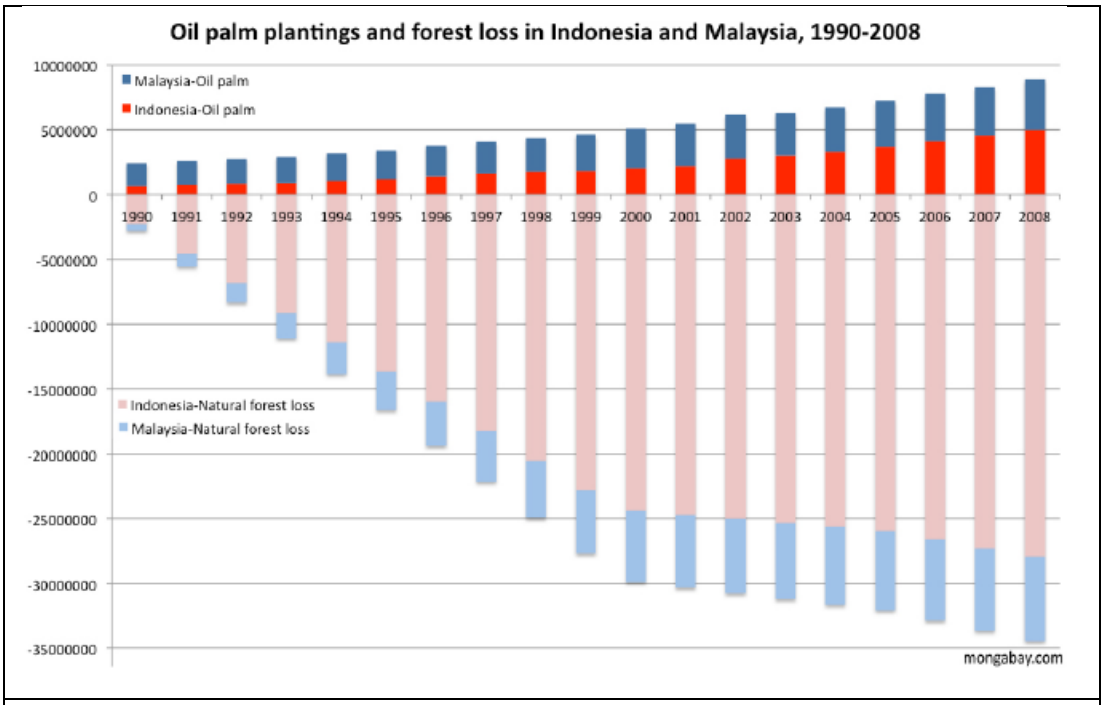
Dopad pěstování palmy olejné na životní prostředí

Pěstování palmy olejné a z ní vyráběných olejů a tuků nemusí představovat ani výrazně negativní dopad na životní prostředí. Palma olejná poskytuje vysokou výtěžnost oleje, nejvyšší ze všech plodů a semen. Pěstování vyžaduje použití nižšího množství chemických prostředků (hnojiv i pesticidů) v porovnání s jinými plodinami jako např. s řepkou či sójou. Z analýzy životního cyklu (obr. 3) vyplývá, že palmový olej má nižší uhlíkovou stopu, acidifikační a eutrofikační potenciál, lepší využití půdy a spotřebu energie na výrobu 1 tuny oleje než jiné běžně používané oleje[4].



Obr. 3. Ekologický profil rostlinných olejů a tuků

Hlavní ekologickou zátěží v souvislosti s pěstováním palmy olejné je vypalování původní vegetace při zakládání nových plantáží. Rozsáhlé požáry jsou zdrojem obrovského množství oxidu uhličitého, který se jednorázově uvolní do ovzduší. Zakládání nových plantáží však nejde jen na vrub pěstování palmy olejné. Obr. 4 ukazuje úbytek původní vegetace v porovnání s plochou nově založených plantáží palmy olejné.

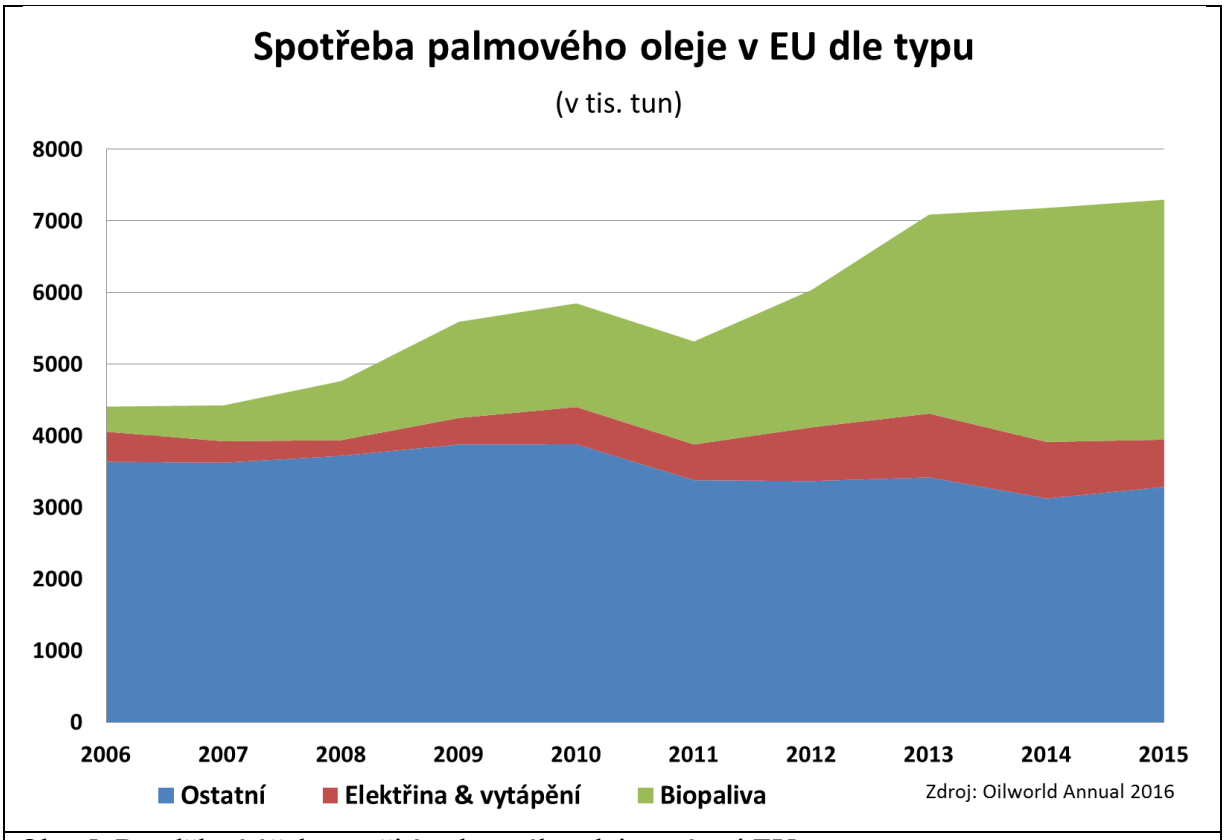


Obr. 4. Porovnání celkově odlesněné plochy s plochou plantáží palmy olejné

Z obrázku 4 je zřejmé, že zvláště v Indonésii, která je hlavním producentem palmy olejné, je plocha nově založených plantáží podstatně menší než celkově odlesněná plocha.

Proč roste poptávka po palmovém oleji?

Potřebu rozšiřovat pěstební plochu určuje zvyšující se poptávka po palmovém oleji. Situace se liší mezi jednotlivými regiony. Spotřeba potravin v Evropě neroste a nemění se výrazně ani jejich skladba, jak se často dovídáme z médií. Poptávka po palmovém oleji pro potravinářské účely v Evropě tudíž není důvodem rozšiřování pěstební plochy palmy olejné. Spojování vypalování pralesů s potravinami obsahujícími palmový olej je zavádějící a mate veřejnost. Jak ukazuje obr. 5, spotřeba palmového oleje pro biopaliva v rámci EU i bez započtení dalšího energetického využití již předstihla jeho používání v domácnostech (v potravinách, kosmetice, detergentech aj.). Spotřeba palmového oleje v rámci potravin, kosmetiky apod. dokonce mírně klesá.



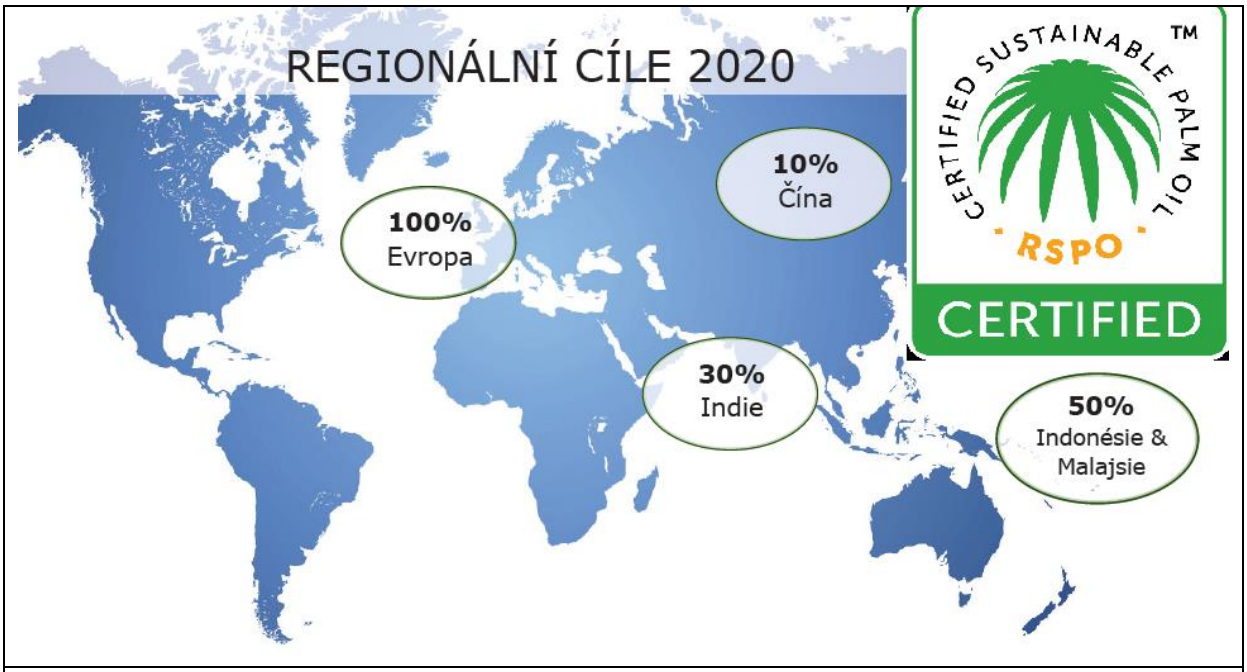
Obr. 5. Rozdělení účelu použití palmového oleje v rámci EU

Používání palmového oleje v potravinách a při vaření však roste v Asii, a to díky rostoucí populaci a zvyšování životní úrovně. Palmový olej je zde používán na vaření jako u nás například olej řepkový.

Možnosti záměny palmového oleje v potravinách

Často diskutovaným tématem je čím by bylo možné palmový olej v potravinách nahradit. Některé iniciativy volají po používání tuzemských olejů jako např. řepkového či slunečnicového. Ty lze ale použít jen ve velmi omezené míře ve výrobcích, kde se tuk nepodílí na struktuře produktu. Kapalné oleje tuto vlastnost nejsou schopny poskytnout. Tekuté oleje lze použít místo palmového oleje při smažení. Pro dlouhodobé smažení nebo fritování jsou však vhodné pouze speciální odrůdy s vysokým podílem kyseliny olejové. Ty se pěstují v malé míře a na jejich zpracování je potřeba i oddělený výkup semene, skladování a zpracování. Na to jsou dnes připraveny pouze menší zpracovatelské podniky odebírající semena olejnin z lokálních zdrojů v daném regionu s možnostmi vlastního uskladnění. Argument, že se palmový olej v potravinách nepoužíval a že se používaly tuzemské suroviny, také neobstojí. Tuzemské suroviny používané ve výrobcích byly oleje částečně ztužené s vysokým podílem transmastných kyselin. Potravinářský průmysl se jich z větší části již zbavil, a to je z hlediska vlivu na zdraví jedině dobře. Opětovné volání po tradičních tuzemských

surovinách by byl krok zpět a vedlo by to ke zhoršení dopadu na zdraví české populace. Alternativou mohou být i jiné tropické tuky. Ty se pěstují ve stejném klimatickém pásmu jako palmový olej. Pokud by měly palmový olej ve výrobcích nahradit, musela by se zvýšit kapacita jejich produkce a opět by to vedlo potřebám rozšiřování pěstební plochy. Navíc všechny tyto alternativy mají nižší výkonnost. Z hlediska životního prostředí nejsou alternativou ani živočišné tuky. Chov hospodářských zvířat je zatížen vysokými emisemi skleníkových plynů. Množství generovaných skleníkových plynů do ovzduší z tohoto zdroje je dokonce vyšší než z dopravy. K omezování spotřeby živočišných produktů vyzývají rovněž různé ekologicky zaměřené skupiny, které operují obdobnými argumenty jako někteří odpůrci palmového oleje. Porovnáme-li uhlíkovou stopu, ta je u palmového oleje dokonce nižší než u mléčného tuku, za předpokladu, že nové plantáže vypalováním původní vegetace. Řešení tudíž nejsou různé akce typu bojkotů různých druhů potravin, ale hledání rezerv v zemědělských a průmyslových technologiích, které by snižovaly ekologickou zátěž spojenou s různými druhy lidských činností. Populace dále poroste, bude za potřebí většího množství potravin, což se sebou ponese i zvyšování uhlíkové stopy v primární produkci potravin i jejich zpracování. Hlavním řešením z pohledu palmového oleje je jeho získávání udržitelným způsobem. Přední výrobci nakupují palmový olej s certifikátem původu. Existuje několik stupňů certifikace. Ten nejvyšší tzv. „Segregated“ s oddělenou distribucí oleje z udržitelných zdrojů dokáže zpětně vysledovat dodávku palmového oleje až do místa pěstování palmy olejné. Vyspělejší západoevropské země si uvědomují důležitost ekologického získávání palmového oleje spolu s jeho nezastupitelnou rolí ve výrobě potravin, a proto vznikají programy na urychlený přechod k užívání palmového oleje z udržitelných zdrojů. Vznikají dobrovolné závazky, aby ke konci roku 2020 pocházel palmový olej v Evropě z udržitelných zdrojů. Evropa je přitom významně napřed před zbytkem světa. Je zde výzva, aby se k této iniciativě přidaly i další země například z regionu střední a východní Evropy.



Obr. 6. Závazky pro používání certifikovaného palmového oleje z udržitelných zdrojů

Hořické trubičky jako příklad správné reformulace

Hořické trubičky bývají často zmiňovány jako příklad tradičních českých výrobků obsahujících palmový olej. Bylo tomu například na semináři k problematice palmového oleje, který se konal dne 15.3.2016 v Poslanecké sněmovně, nebo i na konferenci Dialogem ke zdraví, která proběhla v pražském IKEMu dne 24.4.2016. Různé iniciativy volají po návratu k tradičním tuzemským surovinám, aniž by rozuměly technologii procesu výroby a důvodům, proč je palmový olej v receptuře používán. V těchto vystoupeních nejsou ani správným způsobem prezentována výživová doporučení související s konzumací tuků ve vztahu k některým rizikovým faktorům neinfekčních onemocnění hromadného výskytu. Hořické trubičky jsou zapsány v Rejstříku chráněných označení původu (CHOP) a chráněných zeměpisných označení (CHZO). Návrh podalo Sdružení výrobců Hořických trubiček. Součástí žádosti o zápis je vždy charakteristika výrobku, jeho historie, vymezení oblasti působení, ale i podrobnější popis technologie a použitých surovin. Hořické trubičky mohou používat značku CHZO na základě Nařízení komise (ES) č. 989/2007 ze dne 23. srpna 2007. Podle původního zápisu byl jako jedna ze základních surovin pro výrobu náplně do trubiček používán ztužený rostlinný tuk.

Časopis dTest uveřejnil počátkem roku 2014 rozbory Hořických trubiček, které byly zaměřeny na složení tuku používaného při výrobě. Obsah transmastných kyselin se ve výrobcích pohyboval od 0,17 do 9,95 % z tuku[5]. Vznikla paradoxní situace, kdy se výrobce, který na základě doporučení odborníků na výživu přestal používat částečně ztužené tuky, odchýlil od specifikace výrobku zapsané v Rejstříku CHOP a CHZO. Celá situace byla napravena jako malá změna v rámci Nařízení komise (EU) č. 227/2014 ze dne 7. března 2014. Základní surovinou pro výrobu náplně je podle této úpravy ztužený nebo neztužený rostlinný tuk. Výrobci Hořických trubiček mají tímto od roku 2014 možnost, zda zvolí z výživového hlediska vhodnější náplňový rostlinný tuk bez transmastných kyselin. Palmový olej je z tohoto pohledu dobrá volba. Navíc i v Hořických trubičkách není přítomen běžný palmový olej, ale jeho speciální frakce, která nejvíce vyhovuje výrobní technologii. Trubičky jsou křehké při plnění a náplň musí být dobře rozpustná v ústech, což klade speciální nároky na bod tání tuku. Podle současných deklarací na obalech i další výrobci Hořických trubiček zvolili cestu bez částečně ztužených tuků. Pokud by Evropská komise zrealizovala v budoucnu svůj záměr a stanovila limit na obsah transmastných kyselin v potravinách na 2 g na 100 g tuku, musela by změnami projít většina výrobků, které byly analyzovány časopisem dTest.

Vývoj složení pokrmového tuku Omega

Na konferenci Dialogem ke zdraví 24.4.2016 byl mezi posluchači kolován pokrmový tuk Omega jako příklad výrobku z palmového oleje. Jedná se o výrobek jednodruhový, jako surovina je tedy použit pouze palmový olej. Tento výrobek byl mimo jiné součástí obsáhlejšího testu tuků, který zorganizovala společnost Vím, co jím a piju v roce 2016[6]. Podle výsledků obsah nasycených mastných kyselin byl 53 % a obsah transmastných kyselin 0,6 %. Výrobek tedy v současné době odpovídá moderní koncepci, neobsahuje částečně ztužené tuky. Rozbory tuků na trhu v České republice se pravidelně opakují, jsou publikovány a u zavedených značek na trhu lze dohledat, jaké bylo jejich složení v minulosti. V roce 2007 obsahoval pokrmový tuk Omega 50,9 % nasycených mastných kyselin a 4,5 % transmastných kyselin[7]. Podle analýz z konce roku 2000 obsahoval pokrmový tuk Omega 29,1 % nasycených a 29,8 % transmastných kyselin[8]. Tento zpětný pohled na historii této značky jasně dokumentuje, co byly ony tradiční tuzemské suroviny. Většinou se jednalo o částečně ztužené tuky řepkový či slunečnicový, ale používán byl i částečně ztužený palmový olej. Obsah 30 % transmastných kyselin ve výrobku znamenal, že již jen malé množství tuku (10 g) použité na smažení a snědené spolu se smaženou potravinou, znamenalo překročení tolerovaného denního příjmu pro transmastné kyseliny. Nárůst obsahu nasycených mastných kyselin ve výrobku by při správně a cíleně vedené reformulaci neměl být vyšší než pokles obsahu transmastných kyselin. Obsah rizikových tuků se tímto nezvýší a díky nahrazení transmastných kyselin nasycenými se výživová hodnota potraviny zlepší. Změny složení pokrmového tuku Omega jsou v souladu s touto strategií. Samozřejmě však musíme vzít v úvahu, že obsah nasycených mastných kyselin přes 50 % je vysoký a z výživového hlediska bychom měli výrobky tohoto typu

konzumovat v omezené míře. To však platí o všech výrobcích majících převahu nasycených mastných kyselin bez ohledu, zda obsahují palmový olej či jiný tuk. Vývoj receptury tohoto výrobku však dokumentuje, jak nebezpečné a zavádějící mohou být iniciativy volající po znovu používání tradičních tuzemských surovin, což byly v minulosti ve většině výrobků částečně ztužené tuky.

Závěr

Kampaň proti palmovému oleji má pozitivní stránku z hlediska sledování příjmu nasycených mastných kyselin, které konzumujeme v nadbytku. Palmový olej však není hlavní složkou jejich příjmu. Nasycené mastné kyseliny je potřeba sledovat ve všech zdrojích a tomu uzpůsobit jídelníček. Záměna palmového oleje za jiné druhy tuků ve většině produktů nepřináší pozitivní vliv z hlediska dopadu na zdraví. Na druhou stranu používání palmového oleje místo částečně ztužených tuků je jednoznačně prospěšnou záměnou z hlediska dopadu na lidské zdraví. Pěstování palmy olejné nepředstavuje ani ekologickou zátěž. Je potřeba vyloučit odlesňování a vypalování původní vegetace, sledovat původ palmového oleje a zasazovat se pro pěstování palmy olejné udržitelným způsobem. To je možné udělat v relativně krátkém časovém horizontu za předpokladu, že palmový olej bude využíván v průmyslových technologiích, kde se uplatní jeho přidaná hodnota. Mezi ně však nepatří používání palmového oleje k výrobě biopaliv a dalším energetickým účelům, pokud by toto mělo být důvodem dalšího rozšiřování plantáží palmového oleje.

Literatura

1. Li Y, Hruby A, Bernstein AM., et al. Saturated Fats Compared With Unsaturated Fats and Sources of Carbohydrates in Relation to Risk of Coronary Heart DiseaseA Prospective Cohort Study. **J Am Coll Cardiol** 2015; 66 (14): 1538-1548.
2. Dietary Guidelines for Americans 2015-2020, Eighth Edition. http://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/.
3. REPORT FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT AND. THE COUNCIL regarding trans fats in foods and in the overall diet of the Union population, COM (2015) 619 final. http://ec.europa.eu/food/safety/docs/fs_labelling-nutrition_trans-fats-report_en.pdf
4. Dumelin E. The Environmental Impact of Palm Oil and Other Vegetable Oils http://www.ukm.my/ipi/wp-content/uploads/2013/07/29.2009The-Environmental-Impact-of-Palm-Oil-and-Other-Vegetable-Oils.pdf
5. Test Hořické trubičky a plněné oplatky. dTest 2014; (2): 20-26.
6. Brát J, Doležal M. Složení tuků v maloobchodní síti 2016, Potravinářská Revue 2016; (3): 14-18.
7. Kopicová Z, Brát J. Výskyt transmastných kyselin v pražské tržní síti, Potravinářská Revue 2008; (2): 36-38
8. Suchánek P, Brát J, Poledne R. Složení jedlých tuků a olejů na našem trhu a jejich hodnocení. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 2002; 5 (2): 106-110.

R 7

Z HISTORIE FALŠOVÁNÍ POTRAVIN V ČESKÝCH ZEMÍCH

Konířová, M.
Muzeum Komenského v Přerově, p. o., Horní náměstí 7, 750 11 Přerov

Abstrakt
Falšování potravin není v historii lidstva nic neznámého, souvisí zejména s rozvojem obchodu s potravinami. Přirozenými centry obchodu se stávají města, která se v českých zemích rozvíjejí od 13. století. Na jakost a cenu výrobků dohlížely cechy, kontrolu prodeje a sankce upravovala také městská práva. Dobové prameny včetně literárních dokládají konkrétní příklady podvodů při prodeji potravin, od nedodržování měr a vah po míchání s levnějšími druhy či náhražkami. Rozvoj věd a technologií v 19. století přinesl jak lepší možnosti zkoumání složení potravin, tak i širší možnosti falšovatelům. Jelikož tehdejší legislativa nedokázala účinně proti falšování zasáhnout, byla pro spotřebitele důležitá informovanost o vlastnostech kvalitních potravin a nejčastějších způsobech jejich falšování, aby se těmto praktikám mohli sami bránit. Informace získávali ve školách a školních učebnicích, na přednáškách pro veřejnost či v tematicky zaměřených publikacích. Teprve v roce 1896 byl přijat specializovaný zákon týkající se obchodu s potravinami, který mj. zřizoval státní ústavy pro zkoumání potravin.

Jakmile se potraviny staly předmětem směny a obchodu, objevily se rovněž snahy o jejich falšování jako způsobu získání ekonomické výhody. Protože tak dochází nejen k poškozování jednotlivce (spotřebitele), ale v důsledku také celé komunity, nacházíme v historii zároveň snahu autorit zabránit takovému chování při obchodu s potravinami.

Přirozeným centrem obchodu se stávají města, ve kterých také obvykle žije větší množství lidí závislých na koupi potravin. V českých zemích dochází k rozvoji měst v 13. století, v téže době se též rozvíjejí cechy, které mj. dohlížejí na kvalitu a cenu výrobků svých členů. Další ustanovení týkající se falšování kvantity či kvality zboží nacházíme i v městských právech. Dochované archivní materiály dokládají jak konkrétní způsoby falšování potravin, tak sankce, které za ně byly udělovány.

V souvislosti s falšováním potravin si řada lidí vybaví zejména pověstné máchání nepoctivých pekařů v řece. Odsouzený pekař byl vsazen do koše a vytažen do výšky nad vodu. Pak ale nebyl – jak slovo „máchání“ evokuje – spuštěn do vody, nýbrž musel část exekuce vykonat na sobě v podstatě sám, a to tak, že se i s košem musel odříznout. Tento způsob trestu patřil mezi tzv. potupné, častěji však byly ukládány tresty finanční či vězení. Například za nedodržení váhy pečiva nebo přimíchávání levnějších druhů mouky nebo otrub zaplatili pekaři v Praze podle řádu z r. 1444 poprvé 5 grošů pokuty, podruhé 10, potřetí 15, poté jim mohla být zastavena živnost na rok. O sto let později pekařům nedodržujícím váhu zastavili činnost na měsíc, používání levnější mouky nebo otrub dokonce mohlo vést k úplnému zbavení živnosti. V Mostě zase pekaře zavírali na tolik dní do vězení, o kolik lotů ošidil zákazníky.

Falšovány bývaly i jiné potraviny, kupř. šafrán byl „maštěn“, aby byl těžší, k soli bylo přimícháváno vápno nebo do másla lůj. Z jižních Čech pochází jiný případ falšování másla: roku 1552 byl řešen případ obchodníků, kteří do másla přimíchávali kamení, písek či dubové dříví, navíc soudky záměrně nechávali zhotovovat ze syrového dřeva, aby byly těžší, případně je ze stejného důvodu máčeli ve vodě.

Také kvalita i kvantita nápojů byla falšována. Šenkýři do piva kromě vody přilévali také slabší a horší pivo, rovněž víno často míchali se starým a špatným. Horší víno opravovali mlékem, kamencem, páleným pivem, cukrem, medem aj. Nedodržování správné míry mělo zabránit nařízené používání cejchovaných nádob, které bývaly konšely kontrolovány. Pokud však cejchované nádoby byly z kovu, snažili se je šenkýři různě vyboulit (samozřejmě směrem dovnitř), a tak zmenšit jejich obsah. Pokud byla taková úprava odhalena, byla nádoba „úředně“ proděravěna čili znehodnocena.

Jiným pramenem zpráv o falšování potravin jsou literární památky. V *Satirách o konšelích a řemeslnících* ze 14. století je řezníkům vytýkána záměna druhů masa *(„prodává kozinu / za najlepší skopcěvinu“*), pekařům šizení na váze pečiva, které *„nadýmají“* velkým množstvím kvasnic, takže vypadá velké, ale po rozkrojení v něm zákazník najde „*přehrozné diery*“, sladovníci jsou pak káráni za používání dvojích měr. Jiná veršovaná satira, *Rozmlouvání svatého Petra Pánem* z r. 1585, zase ukazuje falšování koření, které kramáři šidí na váze, ale i na složení: *„Také se to přihází, / že lidé v pepři nachází / kůru chlebovou sušenou / v podobnost pepře stlučenou. Druhdy i drobné kamení / což jistě bez falše není.“*

Zhruba ve stejné době kritizuje německý právník a humanista G. Lauterbeck falšování potravin ve svém spisu, který do češtiny přeložil a v roce 1584 vytiskl Daniel Adam z Veleslavína pod názvem *Politia historica: o vrchnostech a správcích světských knihy patery*. Podle jeho slov je na trhu i při prodeji mimo trhy velké množství zboží *„nějak smícháno a zfalšováno“*, ale takové falšování kupcům nestačí, takže *„ještě k tomu užívají falešných loktů, měr a závaží, aby vždy nebozí chudí lidé dvojnásobně oklamáni a podvedeni byli“*.

V českých zemích se v období rozvoje měst vytvořilo několik okruhů městského práva. Snahy o jeho sjednocení vyvrcholily v 16. století vydáním *Práv městských království českého*, která se v průběhu 17. století stala jednotným zákoníkem městského práva nejprve v Čechách, později i na Moravě (ve Slezsku o něco později, v 18. století). Také tato *Práva* kladla důraz na správné míry a váhy, kupcům a jiným obchodníkům bylo nařízeno používat míry *„spravedlivé“* neboli cejchované.

Zatímco kvantitu zboží bylo možné objektivně kontrolovat (proto onen důraz na používání správných měr a vah), hodnocení kvality a složení potraviny bylo dlouho možné v podstatě pouze senzoricky. Pokrok v tomto směru přinesl drobnohled (mikroskop), který byl v průběhu 17. až 19. století značně zdokonalen.

Další změnu v oblasti falšování potravin i v boji proti němu způsobila chemie, která se v 17. a 18. století rozvíjela zejména jako věda, v 19. století pak následoval rozmach chemické průmyslové výroby, která zasáhla i do oblasti potravinářství. Veřejnost, znepokojená jak množícími se zprávami o tom, co vše a jakým způsobem bylo falšováno, tak nedostatečností tehdejší legislativy, která nedokázala účinně proti falšování zasáhnout, začala právě v chemii spatřovat viníka. Někde zde můžeme najít počátek přesvědčení, že za to špatné v potravinách může „chemie“.

Chemii jako viníka rozmachu falšování potravin v 19. století chápala nejen laická veřejnost, ale též někteří odborníci. Např. v hesle *falšování potravin a pochutin* v *Ottově slovníku naučném* (devátý díl z r. 1895), jehož autorem je lékař a profesor hygieny Gustav Kabrhel, se uvádí: *„Porušování prostředků k výživě člověka sloužících za účelem dosažení většího zisku rozmohlo se v posledních několika desetiletích v ohromné míře. Důkaz toho zajisté není třeba blíže přiváděti, poněvadž jeden každý má příležitost pozorování tohoto druhu činiti.“* Tento vzrůst výskytu a způsobů falšování pak přičítá *„neobyčejnému rozmachu a rozkvětu věd technických a chemických doby novější“*.

Jiní však viděli v chemii naopak způsob, jak se falšování bránit a odhalovat ho. V stati *Porušování a zkoušení potravin*, která je součástí pátého dílu *Kroniky práce, osvěty, průmyslu a nálezův* z r. 1891, píše chemik Josef Klaudi: *„Nespravedlivé jest vyčítati lučbě [=chemii], že ona jest hlavní příčinou a učitelkou porušování [=falšování] [...] I nejzarytější odpůrce chemiků nesmí popříti, že právě lučba a sesterská věda její fysika jsou opět zde by stíhaly ty, kdož jejich vymoženosti zneužívají [...] Chemie to byla, která konsumujícímu člověčenstvu odkryla bídné podvodné porušování a dala zbraň ku sebeobraně do rukou.“*

Protože chemické ani mikroskopické rozbory potravin nebyly většině obyvatel přístupné, sebeobrana, kterou Klaudi zmiňuje, proto spočívala hlavně v informovanosti o tom, jaké vlastnosti má kvalitní potravina a jaké jsou nejčastější způsoby falšování potravin. Tyto informace veřejnost získávala z novinových článků, specializovaných publikací nebo z přednášek pro veřejnost.

Žáci, či spíše žákyně, se o falšování potravin rovněž učily v rámci přírodozpytu (vyučovací předmět, který zahrnoval učivo fyziky a chemie). Následující ukázky pocházejí z jedné z těchto

učebnic, konkrétně z *Nauky o domácím hospodářství: o nejdůležitějších věcech potravních, jich kupování a užívání* od Jana Nešpora, vydané roku 1875:

„Nejčastěji falšuje se mléko vodou. Protože však tímto laciným zředidlem mléko zmodrá, hledí se nápravy dosáhnouti přísadou mouky pšeničné nebo rýžové […] Mouka pšeničná patří mezi nejjemnější a nejbělejší – podléhá však nejčastěji falsifikaci […] Ku falsifikaci mouky upotřebuje se i jiného lacinějšího druhu, o čemž pouze mikroskopem nezvratného přesvědčení nabýti můžem […] Mezi 75 druhy cichorie shledal Marquis 64 sfalšovaných. Obsahuje-li cichorie víc jak 6 % popele, služno ji za úmyslně falšovanou míti, což se praženými kousky chleba, moučkou cihelnou, prachem spodiovým, moučkou hnědouhelnou a zemí děje […] Jelikož zelený čaj oblíbenějším a dražším jest černého, bývá často barvením černého připravován […] Již r. 1843 bylo jen v Londýně 8 továren, jenž se sbíráním listův již upotřebeného čaje po kavárnách zabývaly a po malé úpravě opětně jej prodávaly. Zbytky ty se barví, parfumují a za pravý čaj prodávají. Jiná falsifikací záleží v přimísení mladých, suchých listů jilmových, vrbových, topolových, dřínových a p. ku dobrému, pravému čaji […] K ušetření drahého chmele přičiňují se pivu jiné látky hořkých i mámivých vlastností, které však dobrého chmele nikdy nahraditi nemohou. Takové náhražky chmele jsou: Hořec, hořký jetel č. třílístník (neškodný), dřevo kasiové (mámivé), zeměžluč (neškodná), rojovník bahní (mámivý), jablečník (neškodný), voskovník (mámivý), kyselina pikrová a boby sv. Ignáta (velmi škodné) […] Ku vyšetření omamujících součástek v pivu odporučuje se odkouřiti asi 4 litry piva do hustoty syrobu, něco mouky přidati a pilulky nadělati, jenž pak slepicím se předhazují. Slepice snadno se omámí a pak v chůzi potácí.“

Rozmach falšování potravin v 19. století nebyl problémem pouze českých zemí či Rakouska-Uherska, jehož byly tehdy součástí. Podobnou situaci řešily i jiné státy a postupně zaváděly novou legislativu. První takový potravinářský zákon v Evropě přijala Velká Británie roku 1875; v Německu byl přijat roku 1879. Pro Rakousko-Uhersko to mělo jistý nevítaný následek, protože řada falšovatelů, která přijetím německého zákona přišla o tamější odbytiště, obrátila svou pozornost na sousední země, kde ještě zákon týkající se falšování potravin nebyl přijat.

Příprava a projednání takového zákona v Rakousku-Uhersku trvaly přes jedno desetiletí. Nakonec byl roku 1896 schválen *zákon o obchodu potravinami a některými předměty užitnými* – letos si tedy připomínáme jeho 120. výročí – platit však začal až v roce 1897.

Ačkoliv tento zákon neodstranil falšování potravin (a ani nemohl), znamenal pokrok v boji proti němu mj. tím, že zřizoval „státní ústavy zkušební pro technické prozkoumání potravin“, stanovoval podmínky fungování podobných laboratoří zřizovaných samosprávami a určoval práva a povinnosti těchto ústavů, včetně práva aktivně provádět kontroly a odebírat vzorky s oznamovací povinností v případě, že při testování takového vzorku vznikne *„podezření činu trestního“*.

R 8

SENZORICKÉ HODNOCENÍ NOVÝCH SLADIDEL

Panovská Z., Ilko V., Doležal M., Fléglová A
VŠCHT Praha, Ústav analýzy potravin a výživy

Abstrakt

V současné době je na seznamu přídatných látek, který je v příloze nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinách a přídatných látkách, registrováno 19 povolených sladidel. Mezi nová sladidla povolená v posledních letech, patří glykosidy z rostliny Stévie a sladidlo advantam. V současnosti už je popsáno více než 30 steviol-glykosidů, které Stevia rebaudiana syntetizituje v různých koncentracích. Mezi nejznámější a nejvíce zastoupený patří steviosid, následovaným rebaudiosidem A, rebaudiosidem C a dulkosidem A. Senzoricky se jednotlivé glykosidy liší. Další zajímavé sladidlo je advantam, Jde o *N*-[*N*-[3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propyl]-α-aspartyl]-L-fenylalanin 1-methylester, monohydrát. Jedná se o *N*-substituovaný derivát aspartamu. Uvádí se, že je 37 tisíckrát sladší než sacharóza. Obě sladidla, ačkoliv to výrobci tvrdí, nevykazují čistě sladkou chuť, navíc např. u advantamu je poměrně pomalý nástup a dlouhé doznívání.

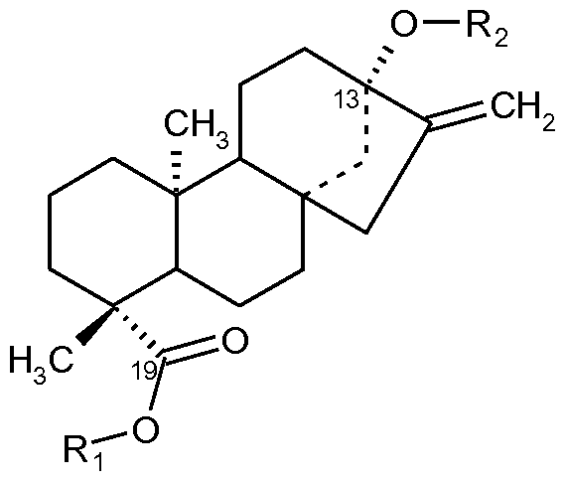
Úvod

Sladidla patří mezi potravinářské přídatné látky, které se přidávají do jídla, aby mu poskytly sladkou chuť. Dříve se pro tyto látky používal termín náhradní nebo umělá sladidla. Podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011, které pojednává o poskytování informací a potravinách spotřebitelům, se připojí pouze označení „se sladidlem (sladidly)“ nebo „s cukrem (cukry) a sladidlem (sladidly). Používání sladidel je nutné uvézt už na etiketě a ne jenom ve složení. Na Evropském trhu je v současnosti povoleno 19 sladidel, jako první byl v roce 1977 povolen sacharin objevený již na konci 19. století. Dalších devět sladidel bylo povoleno v roce 1984. V roce 2000 byla povolena sukralosa a v posledních 5 ti letech byla povolena sladidla neotam (2010), steviosid (2011) a advantam (2014). Z těchto sladidel, hlavně steviosidy, které se nachází v rostlině Stévii (*S. rebaudiana*) byly veřejností dlouho očekávány, protože reklama zdůrazňovala, že se jedná o přírodní sladidla a neodborná veřejnost na slovo přírodní reaguje pozitivně.

Stévie

Stévie sladká je bíle kvetoucí světlomilná tropická rostlina z čeledi hvězdnicovitých *(Asteraceae)*. Je to vytrvalý keř, který dosahuje výšky až jednoho metru a má malé 3-4 cm dlouhé listy a pochází z paraguayských a brazilských oblastí. Tuto bylinu a její sladkou chuť jako první popsal italský botanik Bertoni. Pro její unikátní vlastnosti se pěstování této rostliny rozšířilo po celé Americe, Asii a Evropě. V dnešní době už je známo přes 230 druhů Stévií, ale nejvíce rozšířeným druhem je *Stevia rebaudiana*, díky sladké chuti listů (Christaki, Efterpi, 2013).
Za sladkost stévie jsou zodpovědné diterpen-glykosidy označované jako steviol-glykosidy.
Od sedmdesátých let dvacátého století bylo, převážně japonskými vědci, publikováno řada postupů pro extrakci a rafinaci tetracyklických diterpen glykosidů obsažených v listech této byliny. Všechny mají stejnou základní kostru –steviol, ale liší se hlavně v obsahu sacharidových zbytků mono-, di- a trisacharidů v poloze C13 a C19. V současnosti už je popsáno více než 30 steviol-glykosidů, které se nachází v rostlině v různých koncentracích. Mezi nejznámější a nejvíce zastoupený patří steviosid, následovaným rebaudiosidem A, rebaudiosidem C a dulkosidem A. Steviosid se obvykle nachází ve větším množství než ostatní sloučeniny a je také prokázáno, že je 300 krát sladší než sacharóza. Jednotlivé rebaudiosidy se liší ve sladkosti a hořké pachuti. Ve spolupráci s firmou Merisant jsme získali k senzorickému ohodnocení čtyři nízkokalorické produkty Rebaudiosid D (vzorek A), Rebaudiosid M (vzorek B) a steviol-glykosidy Omega (vzorek C) a Delta (vzorek D).

Steviol-glykosidy Delta a Omega jsou směsi, kde Delta obsahuje více než 50 % rebaudiosidu D. Extrakt ze stévie pod označením Omega v sobě zahrnuje 78 % rebaudiosidu A, a proto si nese i slabou hořkost charakteristickou pro rebaudiosid A.



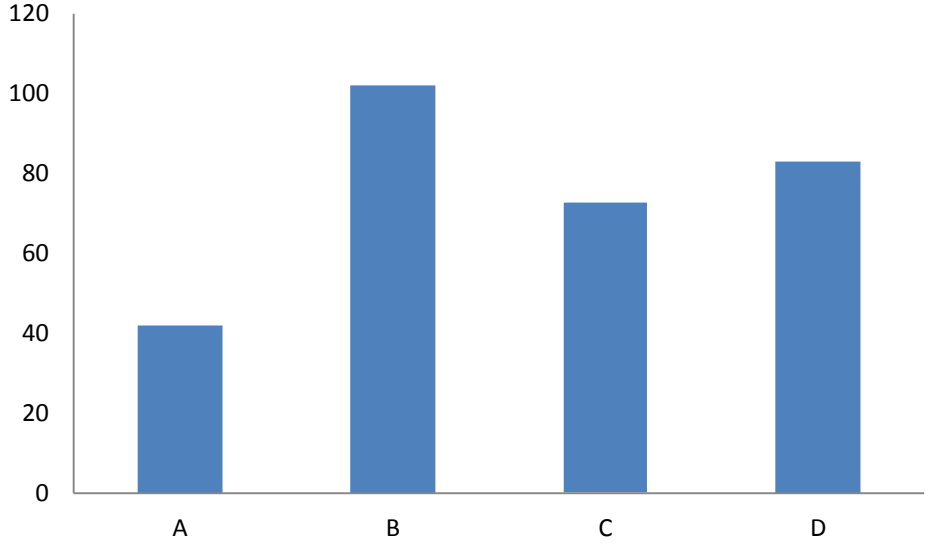
Obrázek 1: ***Steviol***

Tabulka 1 ***Srovnání struktury a sladkosti steviol-glykosidů (sacharóza = 1)***

Sloučenina	**R-skupiny v páteři steviolu**		**Sladivost ve srovnání se sacharózou**
	R_1	**R_2**	
Dulkosid A	β-glc-	α-rha-β-glc-	30
Rebaudiosid A	β-glc-	(β-glc)2-β-glc-	200-300
Rebaudiosid B	H	(β-glc)2-β-glc-	150
Rebaudiosid C	β-glc-	(β-glc, α-rha-)-β-glc-	30
Rebaudiosid D	β-glc-β-glc-	(β-glc)2-β-glc-	221
Rebaudiosid E	β-glc-β-glc-	β-glc-β-glc-	174
Rebaudiosid F	β-glc-	(β-glc, β-xyl)-β-glc-	200
Rebaudiosid M	(β-glc)2-β-glc-	(β-glc)2-β-glc-	250
Rubusosid	β-glc-	β-glc-	114
Steviolbiosid	H	β-glc-β-glc-	90
Steviosid	β-glc-	β-glc-β-glc-	150-250

Byly připraveny roztoky o koncentraci 1g/l. Hodnotitel obdržel řadu vzorků v náhodném uspořádání a měl za úkol seřadit je podle intenzity sladké chuti od nejméně sladkého k nejsladšímu. Výsledky tohoto hodnocení ukazuje graf 1.

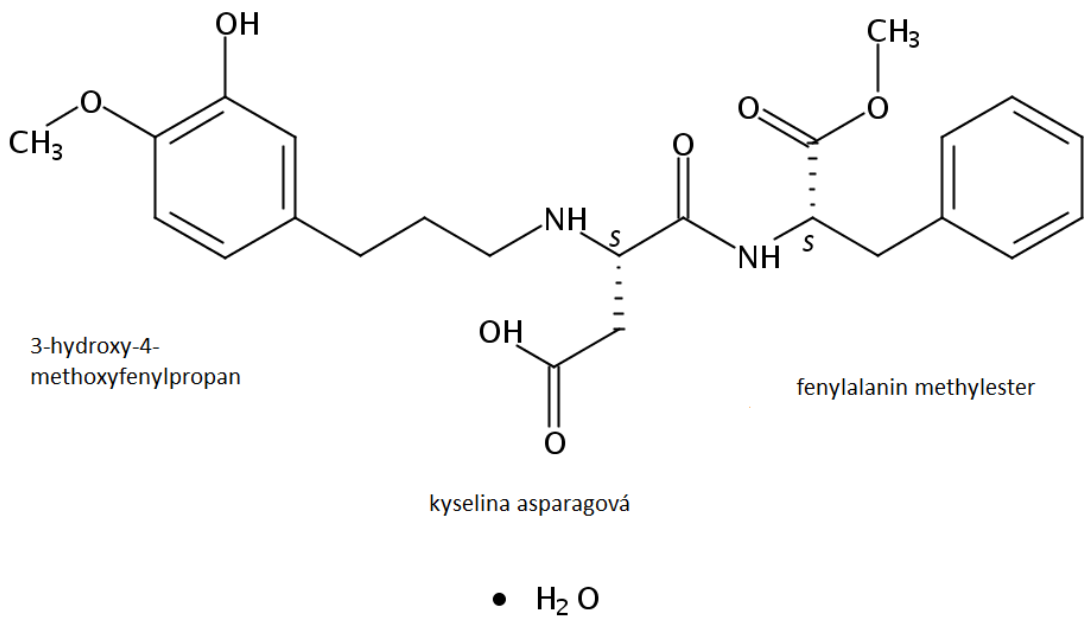
Graf 1 ***Součet pořadí při pořadovém testu***



Pro zjištění rozdílů mezi hodnocenými vzorky se postupovalo metodou podle Friedmana, kde výsledná hodnota ukázala, že na hladině významnosti 5 % existuje mezi vzorky jako celkem statisticky významný rozdíl ve zkoumané sladkosti.
Ukázalo se, že průkazný rozdíl je mezi vzorky A a B, A a C, A a D a dále mezi vzorky B a C.
Vnímaná sladkost je závislá na mnoha faktorech a může být jimi i modifikována. Chemické a fyzikální složení média, ve kterém je sladidlo rozloženo má vliv na chuť a intenzitu. Dále hraje významnou roli koncentrace sladidla, teplota, při které je výrobek konzumován, pH, obsah dalších složek v produktu a v neposlední řadě citlivost degustátora. Míra sladkosti se určuje podle sacharózy, kterou bereme jako standart s intenzitou 1.

Advantam

Sladidlo advantam, (chemická sloučenina *N*-[*N*-[3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propyl]-α-aspartyl]-L-fenylalanin 1-methyl ester, monohydrát) je *N*-substituovaný derivát aspartamu Uvádí se, že je 37 tisíckrát sladší než sacharóza. Advantam je produkován chemickou syntézou, která je rozdělena do třech hlavních částí. Produkce meziproduktu 3-hydroxy-4-methoxycinnamaldehyd (HMCA), následována hydrogenací za účelem tvorby 3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl) propionaldehydu (HMPA). V posledním kroku se metanolový roztok (filtrát) HMPA spojí s aspartamem, čímž vznikne imin, který selektivní hydrogenací vytvoří advantam. Roztok se nechá krystalizovat a surové krystaly se promyjí. Produkt se nechá opět krystalizovat, krystaly se oddělí, promyjí a vysuší. Ve finálních produktech byly zaznamenány hladiny platiny a paladia z katalyzátorů používaných v katalytické hydrogenaci, proto se doporučuje hlídat jejich limity. U advantamu je ze senzorického hlediska zajímavé, že sladká chuť nastupuje se zpožděním a déle doznívá. V laboratoři jsme se snažili zjistit, jak ho posuzovatelé vnímají. Skupina 29 hodnotitelů hodnotila sladkou chuť advantamu o koncentraci 0,01 g/l v časovém intervalu. Z průměrných hodnot vyplynulo, že maximální sladkost byla vnímána 5 s po spolknutí a na poloviční intenzitu klesla po 45-50 s po spolknutí.
Během 70 s, kdy hodnotitelé sladkou chuť zaznamenávali, nedošlo u většiny k úplnému odeznění sladké chutě.



Obrázek 2: Strukturní vzorec advantamu

Závěr

Mnoho mezinárodních potravinářských společností využívá stévio-glykosidy ve svých produktech. Běžně toto nízkokalorické sladidlo najdeme v sušenkách, džemech, zmrzlinách, ovocných nápojích, omáčkách, nakládané zelenině a v mnoha dalších potravinářských produktech. Společnost Coca-Cola ji využívá do své dietní koly.

Vnímání sladkost je závislé na mnoha faktorech a může být jimi i modifikováno. Chemické a fyzikální složení média, ve kterém je sladidlo rozloženo má vliv na chuť a intenzitu. Dále hraje významnou roli koncentrace sladidla, teplota, při které je výrobek konzumován, pH, obsah dalších složek v produktu a v neposlední řadě citlivost každého jedince. Firmy se neustále snaží zlepšit chuťové vlastnosti, musí se maskovat hořká a lékořicová chuť. Toho lze dosáhnout používáním a zastoupením různých steviol- glykosidů. Sladidlo advantam na své větší potravinářské použití ještě čeká, paradoxně jeho velká sladivost je na překážku jeho většímu rozšíření a také pozdní nástup sladké chuti musí výrobci řešit jeho využitím ve směsi s jiným sladidlem.

Literatura

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011

Christaki, Efterpi, Stevia rebaudiana as a novel source of food additives. *Journal of Food and Nutrition Research.* 4, 2013, Sv. 52, 195-202

R 9

REAKTIVNÍ KARBONYLOVÉ SLOUČENINY VE SLADIDLECH A SLAZENÝCH NÁPOJÍCH

Cejpek K., Bánovská V.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

Abstrakt

S používáním cukerných sladidel obsahujících fruktosu (např. fruktosoglukosových sirupů) namísto sacharosy se dnes spojují některé negativní výživové konotace. Jedním z dalších může být i riziko vyššího karbonylového stresu v organismu, které způsobují reaktivní karbonylové sloučeniny (RCS) vznikající zejména z redukujících sacharidů. Za RCS v tomto kontextu považujeme zejména α-dikarbonylové sloučeniny a deriváty karbaldehydu. Jejich přítomnost v potravinách je spojována s určitými riziky, např. poškozením makromolekul glykačními mechanismy, ale i mutagenní aktivitou. Rozsah metabolického přenosu těchto reaktivních látek do organismu je ovšem často přeceňován.

V práci byly srovnány hladiny RCS v sycených nápojích slazených různými sladidly, sladidlech používaných pro jejich výrobu, sirupech používaných jako sladidla v kuchyni, krystalických cukerných sladidlech, medu a dalších výrobcích. Byly zjištěny vztahy mezi obsahem α-dikarbonylových sloučenin, karbaldehydů a methylenaktivních redukujících karbonylových látek na straně jedné a obsahem jednotlivých sacharidů a redoxním potenciálem na straně druhé.

Hlavním závěrem vyplývajícím z naměřených experimentů je skutečnost, že druh cukerného sladidla nemusí být pro obsah α-dikarbonylových sloučenin ve slazených nealkoholických nápojích rozhodující. Hladiny těchto reaktivních látek ovlivňuje významně také hodnota pH nápoje, skladovací podmínky, přístup kyslíku a doba skladování. Vyšší koncentrace α-dikarbonylových sloučenin v sirupech a nápojích jsou sice vnímány spíše negativně, ovšem zároveň bývají zvýšeny hladiny reduktonů a příbuzných látek, což je naopak žádoucí.

Úvod

Reaktivní karbonylové sloučeniny (RCS) obsahují v molekule jednu nebo více reaktivních karbonylových skupin. Mezi nejreaktivnější RCS patří α,β-nenasycené karbonylové sloučeniny a dialdehydy, reaktivní ale jsou i ostatní dikarbonylové sloučeniny a některé α-hydroxykarbonylové a karbaldehydové sloučeniny. Vznikají během transformace řady základních živin – patří mezi ně některé sekundární produkty oxidace lipidů i aminokyselin, ale ještě častěji mnohé produkty transformace sacharidů. Relativně podrobně jsou popsány škodlivé účinky RCS v živých organismech (*in vivo*). Jejich značná reaktivita vůči nukleofilním látkám vede k modifikaci struktury bílkovin, nukleových kyselin a aminofosfolipidů, a tím i k případným cytotoxickým a mutagenním účinkům. Kromě jejich přímé toxicity, modifikace těchto biomolekul prostřednictvím RCS dává vzniknout mnoha aduktům a příčným vazbám, které jsou spojovány s mechanismy stárnutí a patologickými stavy široké škály lidských onemocnění. Zvýšené hladiny RCS oproti homeostáze v tkáních i pletivech jsou klíčovou příčinou tzv karbonylového stresu, který přispívá ke stárnutí, patogenezi metabolických syndromů, chronickým komplikacím spojených s diabetem a selháním ledvin, neurodegenerativním poruchám a dalším onemocněním [1]. Pochopení vztahu mezi metabolismem RCS a rozvojem patologických poruch může pomoci vyvinout účinné postupy vedoucí k prevenci řady chorob. Na druhé straně konstantní hladiny RCS v buňkách zdravého jedince naznačují, že v živých organismech hrají i významnou pozitivní úlohu. Mezi poznané prospěšné účinky RCS patří role regulátorů buněčného přenosu signálu a genové exprese. RCS mohou zřejmě modulovat i řadu dalších biologických procesů. Proto, stejně jako je tomu u ostatních reaktivních forem, hrají RCS *in vivo* dvojí roli, která se mění v závislosti na dávce, místě a času [1].

Kromě toho, že jsou mnohé RCS generovány jako produkty metabolismu, mohou vznikat obdobnými mechanismy i během výroby nebo skladování potravin. Zřejmě nejreaktivnějšími RCS jsou α-dikarbonylové sloučeniny, které vznikají z cukrů během tepelného zpracování nebo sušení

v průběhu karamelizace nebo Maillardovy reakce (někde označované jako glykace). Z hexos vznikají α-dikarbonylové sloučeniny s intaktním C-6 řetězcem, jako je 3-deoxy-D-*erythro*-hexos-2-ulosa (3-DG) nebo za oxidačních podmínek D-*arabino*-hexos-2-ulosa (glukosulosa). Analogicky pak např. z galaktosy vznikají 3-deoxygalaktosulosa a galaktosulosa. V menším rozsahu pak v závislosti na podmínkách vznikají mechanismy retroaldolizace aj. fragmentární α-dikarbonylové sloučeniny, jako jsou např. methylglyoxal (MG) a glyoxal (G). Z 1,4-glykosidově vázaných oligosacharidů vzniká jako významný produkt C-5 sloučenina 3-deoxypentosulosa [2].

Sledování hladin α-dikarbonylových sloučenin je důležité např. v roztocích pro peritoneální dialýzu obsahujících glukosu kvůli možným negativním účinkům *in vivo*. V chemii potravin hrají tyto reaktivní meziprodukty klíčovou roli při vzniku řady aromatických a barevných látek. Velmi snadno pak α-dikarbonylové sloučeniny reagují s postranními řetězci aminokyselin, jako jsou lysin a arginin, a modifikují tak bílkoviny ve smyslu tvorby tzv. pokročilých produktů glykace (AGEs). Široká škála těchto produktů je dávána do souvislosti s pozitivními a negativními důsledky, které se projevují jak v potravinách, tak *in vivo* [1].

Detailních údajů o hladinách α-dikarbonylových sloučenin v potravinách je relativně málo a často jsou omezeny na speciální potraviny jako je med [3]. Dominantní α-dikarbonylovou sloučeninou ve většině analyzovaných potravin je 3-DG, v potravinách jako jsou ovocné šťávy, sladké vinné octy nebo sušenky se vyskytuje v množstvích až několika stovek mg/kg, často vyšších než odpovídající koncentrace běžného markeru rozsahu transformace cukrů, 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu (HMF). Fragmentární dikarbonyly, zejména MG, jsou nacházeny obvykle v řádově nižších koncentracích [4].

Mezi potraviny, kde lze očekávat vyšší hladiny RCS a zejména α-dikarbonylových sloučenin, patří slazené nealkoholické nápoje. V posledních letech se často diskutují výživové aspekty spojené s masivním využitím fruktosoglukosových sirupů jako náhražek sacharosy aj. tradičních sladidel v nápojích, cukrovinkách aj. potravinách. Glukosové a maltosové sirupy se připravují z obilných škrobů, většinou enzymovou hydrolýzou do různého stupně zcukření. Sirupy s fruktosou (GFS, HFCS) se připravují parciální isomerací glukosy na fruktosu enzymem glukosoisomerasou. HFCS s 55 % fruktosy má srovnatelnou sladivost se sacharosou a používá se pro slazení sycených nealkoholických nápojů (limonád) nejen v USA, ale stále více i v Evropě, zde často z pšeničných škrobů. HFCS-42 je méně sladký a požívá se na slazení nesycených nealkoholických nápojů s ovocným aroma, pekařských, cukrářských aj. výrobků. Mezi výhody fruktosoglukosových sirupů ve srovnání se sacharosou patří nižší cena při stejné sladivosti, lepší manipulací při výrobě (tekutá forma vs. krystalická sacharosa) a relativní stabilita v kyselém prostředí. Mezi diskutované nevýhody glukosofruktosových sirupů patří podezření na vztah s vyšší četností obezity, diabetu aj. chronických onemocnění, které ovšem nebylo seriozně prokázáno. Skutečností je, že fruktosa je primárně metabolizovaná v játrech, což vede k lipogenezi a vyšší hladině lipidů v plasmě. Fruktosa rovněž nevyvolává sekreci insulinu, potažmo leptinu, jako glukosa, takže snižuje pocit nasycení, a tím ovlivňuje apetit [5].

Stanovením α-dikarbonylových sloučenin v limonádách slazených fruktosovými sirupy (zejm. vysokofruktosovým kukuřičným sirupem – HFCS-55) se zabývá jen několik málo prací [6-8]. Závěrem těchto prací je, že celková koncentrace α-dikarbonylových sloučenin v limonádách slazených fruktosovými sirupy je významně vyšší než při použití sacharosy jako sladidla. Ve všech případech ale chybějí souvislosti postihující dynamiku a kinetiku reakcí neenzymového hnědnutí, spočívající ve stanovení dalších parametrů, jakými jsou např. aktuální koncentrace redukujících sacharidů, kyselost nápoje nebo stáří vzorku.

Experimentální metody

- Stanovení α-dikarbonylových sloučenin - předkolonová derivatizace s *o*-fenylendiaminem, RP-HPLC/UV-Vis;
- stanovení karbaldehydů (HMF) a stabilních reduktonů (DDMP) - RP-HPLC/UV;
- stanovení cukrů - HPLC/RID (refraktometrická detekce);

- stanovení redoxního potenciálu - potenciometrie - stanovení ORP, rH skóre.

Výsledky a diskuse

Analýzou devíti sirupů – průmyslových surovin - různého původu, složení a stáří bylo zjištěno, že dominantním přítomným α-dikarbonylem je obvykle 3-DG a že množství fragmentárních dikarbonylů se významně liší podle původu a stáří sirupu. Naše výsledky naznačují, že právě hladina MG pozitivně koreluje se skladovacími podmínkami, resp. stářím sirupu. To dokumentuje extrémně vysoká koncentrace MG (186 mg/l, >90 % všech dikarbonylů) ve fruktosovém sirupu, uskladněném při laboratorní teplotě zhruba 20 roků. Sirupy obsahující maltosu – maltosový, glukosový a fruktosoglukosový – obsahovaly také významná množství 3-deoxypentosulosy (3-DP). Nejnižší hladiny α-dikarbonylů (výhradně 3-DG) byly nalezeny u práškových glukosových sirupů – 3-8krát nižší než u srovnatelných sirupů, což je v souladu se známou závislostí rychlosti transformace cukrů na aktivitě vody.

Dále bylo analyzováno osm sirupů používaných jako alternativní sladidlo v kuchyni nebo jako nutraceutikum. Hladina α-dikarbonylů v těchto případech ani tak nekoresponduje se stářím vzorku, jako především s podmínkami při jejich výrobě. Nejvyšší hodnota (108 mg/l, 3-DG) byla nalezena u kokosového sirupu, který se vyrábí zahušťováním zahřívaného nektaru získaného z květů. Zajímavé bylo, že nejnižší hodnoty (6 mg/l) byly nalezeny u bezinkového sirupu 7 let starého skladovaného při 4 °C. Zde se možná uplatnil vliv přítomných fenolových látek na snižování hladin α-dikarbonylů (redukce, tvorba aduktů) [9]. Pokud se chce spotřebitel vyhnout konzumaci fruktosy, měl by zvolit rýžový sirup nebo Sladovit, naopak by se měl vyhýbat agávovému sirupu.

Krystalická cukerná sladidla obsahovala podle předpokladů většinou nekvantifikovatelná množství dikarbonylů, až na čistou fruktosu (r. v. 2016 3 mg/kg a r. v. 2011 11 mg/kg). Zajímavý byl nález v kokosovém cukru, kde byla přítomna neznámá α-dikarbonylová sloučenina značně polárního charakteru (16 mg/l, kvantifikováno jako MG).

Hladiny α-dikarbonylových sloučenin nalezené v limonádách jsou srovnatelné s koncentracemi dikarbonylů v relevantních sirupech (HFCS-55). Vzhledem k tomu, že koncentrace sirupu v limonádách je kolem 10 %, je zřejmé, že při výrobě a skladování limonád dochází k zásadnímu navýšení (7-8krát) koncentrace α-dikarbonylových sloučenin. V limonádách se také nachází relativně více fragmentárních α–dikarbonylových sloučenin, zejm. MG, než v sirupech. Dominantní α–dikarbonylovou sloučeninou v limonádách zůstává ale rovněž 3-DG. Za podmínek analýzy nedošlo ovšem separaci isomerní 3-deoxygalaktulosy, které se však nepředpokládá víc než 10 % přítomné 3-DG. Pro nápoje slazené sirupy připravenými z kukuřičného a pšeničného škrobu nebyly v množstvích α-dikarbonylových sloučenin nalezeny významné rozdíly.

Zásadním zjištěním byla skutečnost, že hladiny dikarbonylových sloučenin v limonádách slazených sacharosou se statisticky významně (α=0,95) neliší od nápojů slazených HFCS a pšeničnými fruktosoglukosovými sirupy. Je to dáno především tím, že v kyselých limonádách (pH kolem 2,6) dochází k významné hydrolýze sacharosy na fruktosu a glukosu, a to ze 40-60 %. Ani to ovšem není nutnou podmínkou. U vzorku Pepsi (CZ) s daleko vyšším pH (4,3) se nachází téměř výhradně sacharosa, avšak α-dikarbonylové sloučeniny se tam vyskytují také ve srovnatelných koncentracích. Je to dáno tím, že rozsah a rychlost transformace invertu na α-dikarbonylové sloučeniny jsou zde sice podstatně nižší, stejně tak je ovšem pomalejší jejich transformace na finální produkt, 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehyd (HMF). Výsledkem je pak relativně stabilní a srovnatelná koncentrace α-dikarbonylových meziproduktů, resp. 3-DG, ve všech uvedených typech nápojů. Obsah HMF je ovšem v nápojích slazených fruktosovými sirupy 2,5 - >1000 krát vyšší než v nápojích slazených sacharosou. Málo HMF je také v nápojích slazených glukosovými sirupy. Limonády slazené kombinací cukerných a náhradních necukerných sladidel obsahují přiměřeně nižší množství α-dikarbonylových sloučenin. Limonády slazené výhradně náhradními sladidly (Aspartam, Sucralosa) obsahují jen zanedbatelná množství α-dikarbonylových sloučenin, a to z použitého kuléru u kolových nápojů.

Vyšší hladiny α-dikarbonylových sloučenin jsou vnímány spíše negativně, avšak sirupy a podobné komodity s vyšším množstvím α-dikarbonylových sloučenin mají tendenci zároveň vykazovat žádoucí nižší redoxní potenciál. Vztah mezi redoxním potenciálem a množstvím dikarbonylových sloučenin v sirupech není příliš těsný, neboť jen některé minoritní α-dikarbonylové sloučeniny (1-DG, acetylformoin) jsou zároveň reduktony. Trend snižování redoxního potenciálu souvisí více s tvorbou pokročilejších, relativně stabilních redukujících produktů, jako je např. 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(*H*)-pyran-4-on (DDMP). Ten byl z analyzovaných vzorků nalezen pouze v kokosovém sirupu a cukru připravovaných s použitím tepelného působení, neboť vznik DDMP vyžaduje vyšší aktivační energii než např. HMF.

Závěr

Většina α-dikarbonylových sloučenin přítomných v limonádách se tvoří *de novo* z redukujících cukrů během jejich výroby a skladování, nezáleží tedy na jejich hladinách v přidaném cukerném sladidle. α-Dikarbonylové sloučeniny se nacházejí ve srovnatelných koncentracích jak v nápojích slazených tradičně sacharosou, tak fruktosovými sirupy. Pokud se chceme vyhnout konzumaci fruktosy, je třeba vynechat nejen limonády slazené GFS (HFCS), ale i kyselé limonády (pH 2,5) slazené sacharosou, neboť tam fruktosa vzniká její hydrolýzou. Pokud se chceme vyhnout příjmu α-dikarbonylových sloučenin, je třeba zvolit nápoje slazené umělými sladidly. Pokud se chceme vyhnout zvýšení hladin dikarbonylových sloučenin v krevní plasmě, což je právě to reálné riziko karbonylového stresu, je lépe nealkoholické nápoje slazené cukernými sladidly z diety úplně vynechat.

Literatura

[1] Semchyshyn H.M. Reactive Carbonyl Species In Vivo: Generation and Dual Biological Effects. *The Scientific World Journal*, Volume 2014 (2014), Article ID 417842, 10 pages.

[2] Glomb, M.A.; Gobert, J.; Voigt, M. Dicarbonyls from Maillard degradation of glucose and maltose. In *Controlling Maillard pathways to generate flavors*, Eds. ACS Symposium Series, Washington, DC, **2010**, 35-44.

[3] Weigel, K. U.; Opitz, T.; Henle, T. Eur. Studies on the occurrence and formation 1,2-dicarbonyls in honey. *Eur. Food Res. Technol.* 2004, 218, 147–151

[4] Degen, J.; Hellwig, M.; Henle, T. 1,2-Dicarbonyl Compounds in commonly consumed foods. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 7071-7079.

[5] White J.S. Misconceptions about high-fructose corn syrup: is it uniquely responsible for obesity, reactive dicarbonyl compounds, and advanced glycation endproducts? *J. Nutr.* 2009, 139, 1219S-1227S.

[6] Thornalley, P. J.; Rabbani, N. Dicarbonyls in Cola drinks sweetened with sucrose or high fructose corn syrup. *The Maillard Reaction: Interface between Aging.* 2010, 158-163.

[7] Lo, Ch.; Li, S.; Wang, Y.; Tan, D.; Pan, M.; Sang. S.; Ho, Ch. Reactive dicarbonyl compounds and 5-(hydroxymethyl)-2-furfural in carbonated beverages containing high fructose corn syrup. *Food Chem.* 2008, 107, 1099–1105.

[8] Gensberg, S.; Glomb, M. A; Pischetsrieder, M. Analysis of sugar degradation products with α-dicarbonyl structure in carbonated soft drinks by UHPLC-DAD-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 10238-10245.

[9] Jiang D., Peterson D.G., 2009. *J. Agric. Food Chem.* 57: 9932-9943.

R 10

BIFENYLY, MOŽNÁ PŘÍČINA SMYSLOVÉ VADY NEALKOHOLICKÉHO NÁPOJE

Kružík V.[1], Šístková I.[1],Čížková H.[1]
[1)] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav konzervace potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Nealkoholické nápoje jsou všeobecně považovány za trvanlivé a odolné vůči nežádoucím změnám a kažení. Přesto může spotřebitel výjimečně identifikovat v oblíbených nápojích jisté odchylky od běžného stavu, přítomnost přípachů, pachutí, plovoucích shluků, sedimentu nebo zákalu (u obvykle čirých nápojů), či nafouknutí obalu. Zmíněné vady jsou nejčastěji způsobené pomnožením kazících mikroorganismů a jsou patrné na „první pohled“. Čímž naštěstí obvykle konzumenta odradí od požití kontaminovaného výrobku. Mezi mikroorganismy spojované s kažením nápojů patří bakterie mléčného a octového kvašení, určité kvasinky a plísně. Povinností výrobce je jejich výskyt eliminovat výběrem kvalitních surovin, zvolením správného a dostatečného způsobu konzervace (pasterace, aseptické balící linky, chemické konzervační látky jako jsou kyselina benzoová, kyselina sorbová, nebo velcorin) a typem obalového materiálu. Smyslové vady v nealkoholických nápojích mohou však mít i jinou příčinu, mezi ty pravděpodobné patří:

1) nedodržení správné výrobní praxe (např. nestandardní nebo nekvalitní surovina, chybné dávkování jednotlivých složek, nedostatky obalového materiálu),

2) chemické látky migrující z okolního prostředí (např. chemické látky z výrobního zařízení, zbytky sanitačních prostředků, migrace látek z obalového materiálu),

3) nesprávné podmínky skladování nápoje (vyvolávající různé chemické enzymatické změny nebo prostup nežádoucích pachových látek přes obal)

4) případně kombinace výše uvedeného.

Z možných příčin vzniku smyslových vad nealkoholických nápojů je v příspěvku věnována pozornost kontaminantům chemického původu pocházejícím z použité suroviny, konkrétně z konzervační látky – z toho důvodu jsou k tomuto tématu uvedeny detailní informace v Tabulce 1.

Cílem práce bylo určit příčinu nevyhovujících smyslových vlastností ochucených minerálních vod. Ty podle proškolených hodnotitelů vykazovaly atypickou chuť a vůni (popisovanou jako po jiném druhu ovoce, po pryskyřici až desinfekci), průkazně odlišnou od kontrolních vzorků.

Tabulka 1: Konzervační látky v nealkoholických nápojích

E kód	Účinek	Nejčastěji používané konzervační látky
E200 – E299	Prodlužují trvanlivost tím, že nápoje chrání proti růstu kazících i patogenních mikroorganismů (bakterií, kvasinek, plísní). Pokud není údržnost nápoje zajištěna jiným způsobem (např. pasterací, sycením CO_2), je jejich použití pro dlouhodobou trvanlivost nápoje nezbytné.	Kyselina benzoová a kyselina sorbová, respektive jejich soli (E210-E213) a směsi. Jsou účinné vůči kvasinkám, plísním a některým bakteriím, aktivní formou jsou nedisociované kyseliny (pK okolo 4,5), v potravinách (nápojích) s vyšším pH jejich účinek násobně klesá. Dimethyldikarbonát (E242), obchodní název velcorin, je účinná konzervační látka proti plísním a kvasinkám. Velcorin působí antimikrobiálně už v okamžiku aplikace do nápoje, následně se rozkládá na metanol (v zdravotně nezávadné koncentraci) a oxid uhličitý.

MATERIÁL A METODY

Materiál: 4 vzorky ochucených minerálních vod (2 se smyslovou vadou, 2 kontrolní – s jahodovou a malinovou příchutí); 6 vzorků benzoanů sodných technologické kvality různého původu (benzoan č. 1 a 4 odpovídají defektním vzorkům ochucených minerálních vod); standardy: benzoan sodný, Fluka, >99%, 4-phenyltoluene (4-methyl-1,1‘-bifenyl), 98%, bifenyl, Aldrich, ≥99%.

Přístroje a metody: GC-O/MS ((plynový chromatograf 7890 B, Agilent Technologies; olfaktometrický detektor, JAS)

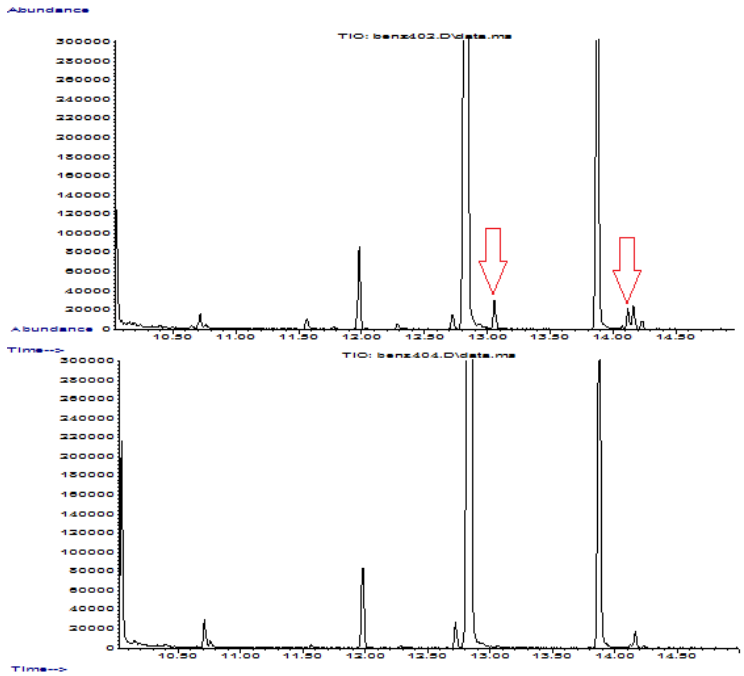
- Kolona: HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (30 m x 250 µm x 0,25 µm), Agilent Technologies
- Mobilní fáze: Helium, konstantní průtok 1,4 ml/min, Teplota nástřiku: 225 °C, Teplotní průběh: 50 °C po dobu 2 min, dále 10 °C/min do 225°C s výdrží 5 min, Teplota MS detektoru: Zdroj – 230 °C, kvadrupól – 150 °C

V poslední (3.) části experimentu byla proveden olfaktometrická analýza: těkavé látky separované plynovým chromatografem byly převedeny do olfaktometru (eluát dělen v poměru 1:1, olfaktometrická trubice vyhřívána na 180 °C) a hodnoceny panelem čtyř hodnotitelů z Ústavu konzervace potravin VŠCHT Praha metodou detekce frekvence s následným odhadem intenzit společně s popisem charakteristické vůně eluované sloučeniny.

VÝSLEDKY

Vlastní řešení problematiky mělo následující tři fáze:

1. Určení pravděpodobné příčiny defektu nealkoholického nápoje pomocí srovnání profilu těkavých látek defektních a kontrolních vzorků: Ve vzorcích s defektem byly navíc přítomny dva deriváty bifenylu: 2-methyl-1,1‘-bifenyl a 4-methyl-1,1‘-bifenyl, u kterých byl na základě dat získaných ze systému dosledovatelnosti vysloven předpoklad, že se do vzorku dostaly z konzervačního činidla – benzoanu sodného. Na Obrázku č. 1 je porovnání chromatogramu standardního a defektního vzorku s jahodovou příchutí.



Obrázek č. 1: Porovnání chromatogramu standardního (dole) a defektního (nahoře) vzorku balené vody s jahodovou příchutí (šipky označují výskyt derivátů bifenylu)

2. Screening dostupných benzoanů na přítomnost bifenylu a jeho derivátů : Z výše uvedených důvodů byly na přítomnost bifenylů následně prověřeny šarže benzoanu sodného jež byly při výrobě defektní vody použity (vzorek č. 1 a č. 4) a zároveň další komerčně dostupné benzoany (č. 2, 3, 5, 6, 7) a laboratorní standard (č. 8), viz Tabulka 2. Zároveň byly kvantifikovány ty bifenyly, ke kterým byly dostupné analytické standardy (Tabulka 3). Nejčastěji se benzoová kyselina, z které se následně vyrábí benzoan, vyrábí oxidací v kapalné fázi z toluenu, vedlejších produktů zpracování může být celá řada včetně bifenylu a jeho derivátů, čistota finálního benzoanu závisí na podmínkách a postupu následného přečištění. Bifenyl se jako konzervant a pesticid používaná k ošetření povrchů citrusů nebo obalového materiálu (E kod E230 – v EU pro potraviny není povolen), informace o tom, že by společně s některými deriváty způsoboval off-flavour potravin a nápojů není v odborné literatuře dostupná.

Tabulka 2: Těkavé látky identifikované v analyzovaných benzoanech sodných (kvantifikováno jako plocha píku /1000)

Název látky /označení benzoanu č.	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Difenylmethan	12	0	34	6	7	6	8	2
Bifenyl	37	9	6	93	0	09	0	0
2-methyl-1,1'-bifenyl	129	31	23	258	0	69	0	0
3-methyl-1,1'-bifenyl	49	4	20	43	0	27	0	0
4-methyl-1,1'-bifenyl	29	15	6	35	0	9	0	0
3-methyl 1,1'-bifenyl	3	12	3	66	0	11	0	0
1-(phenylmethoxy)-3-buten-2-ol	13	3	2	10	0	10	0	0
1-methyl-2-(phenylmethoxy)-benzene	3	2	1	7	0	2	0	0

Tabulka 3:Obsah bifenylů v analyzovaných benzoanech sodných

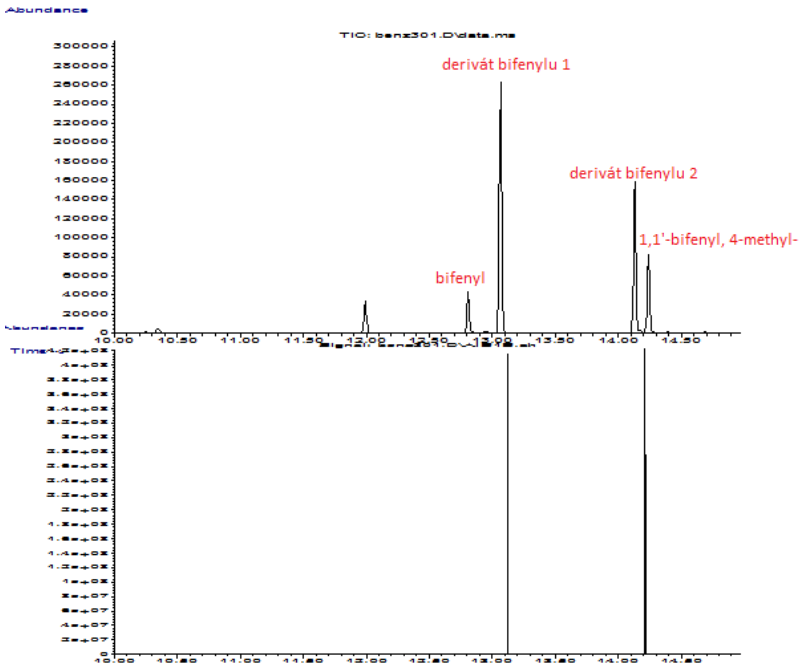
Vzorky	**Bifenyl (mg/g)***	**4-methyl-1,1'-bifenyl (mg/g)***
Benzoan, vzorek č. 1	0,08	0,30
Benzoan, vzorek č. 4	0,30	0,35
Benzoan, vzorky č 2,3,5 -8	méně než 0,02	méně než 0,1

*vztaženo na gram vzorku (na 1 g benzoanu sodného)

3. Senzorické a olfaktometrické hodnocení podezřelých vzorků benzoanů (č. 1 a č.4) a standardů bifenylů: Podezřelé šarže benzoanu sodného byly analyzovány ve dvou koncentracích – 0,2 g/l pitné vody (podle receptury odpovídá dávkování do nápoje) a 0,1 g/l. Výsledky senzorické ananalýzy jsou uvedeny v Tabulce 4. V případě olfaktometrického hodnocení, byly bifenylyl zaznamenány jen při vyšší koncentraci – charakter vjemu byl popsán jako spíše příjemný, látky měly ovocnou až zelenou vůni (Obrázek č. 2). Další část práce byla tedy zaměřena na určení prahové hodnoty koncentrace standardu bifenylu a jeho derivátu ve vodném roztoku. Hodnoceny byly čtyři roztoky standardů o koncentracích od 0,1 mg/l do 0,005 mg/l. Prahová hodnota vnímání bifenylu byla určena na 0,01 mg/l; 4-methyl-1,1'-bifenylu pak byla cca třikrát vyšší - 0,03 mg/l (Tabulka 5).

Tabulka 4: Senzorické hodnocení benzoanů

Vzorky	**Senzorické vlastnosti (trojúhelníková zkouška+slovní popis senzorického vjemu)**	
	Koncentrace 0,2 g/l	**Koncentrace 0,1 g/l**
Benzoan, vzorek č. 1	V připravené koncentraci jsou oba vzorky spolehlivě rozpoznatelné od standardního benzoanu (laboratorní standard). Jsou charakteristické zápachem –vůní, připomínající ovocné plody (citrusy). Vůně není štiplavá, spíše příjemná. Chuť se významně neliší, ale podle některých hodnotitelů je ovocná, až po pryskyřici nebo dezinfekci.	Nebyl prokázán o rozdíl od standardního benzoanu (laboratorní standard).
Benzoan, vzorek č. 4		



Obrázek č. 2: Chromatogram a aromagram benzoanu sodného č. 1 o koncentraci 0,2 g/l

Tabulka 5: Olfaktometrická analýza – zjištění prahové hodnoty standardů bifenylů ve vodném roztoku

c (mg/l)/ senzorický vjem	**Bifenyl**	**4-methyl-1,1'-bifenyl**
0,1	Příjemně intenzivní aroma	Příjemně intenzivní aroma
0,05	Spolehlivě rozpoznatelné aroma	Spolehlivě rozpoznatelné aroma
0,04	Slabé intenzita aroma	Těžko rozpoznatelné aroma
0,03	Velmi slabé aroma	Nelze identifikovat
0,02	Těžko rozpoznatelné aroma	Nelze detekovat
0,01	Nelze identifikovat	Nelze detekovat

ZÁVĚR

Studium problematiky bude nadále pokračovat, přesto je možno současný stav řešení shrnout do následujících bodů:

1. Problematické nápoje se liší od dobrých vyšším zastoupením bifenylů.
2. Smyslově odlišné (vadné) benzoany se od smyslově neutrálních liší vyšším obsahem bifenylů. Při olfaktometrii je u těchto vzorků identifikován stejný senzorický vjem v retenčním čase eluce bifenylů, je však pravděpodobné, že smyslové vlastnosti různých derivátů jsou různé a různě intenzivní.
3. Kontaminace bifenyly je do max. 1 mg/g, takže běžným testem na čistotu benzoanu (bylo provedeno pomocí HPLC UV/VIS s typickým nálezem odpovídajícím deklarované čistotě 98-101 %) ji není možné odhalit.
4. K návrhu nápravných opatření za účelem eliminace výskytu uvedené vady nápoje patří: 1) revize požadovaných specifikací, 2) zařazení senzorické analýzy roztoků benzoanů do vstupní kontroly

PODĚKOVÁNÍ: Výzkum byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2016): A1_FPBT_2016_002.

LITERATURA

Ashurst P., HargittR.: Soft Drink and Fruit Juice Problems Solved, Woodhead Publishing Limited, ISBN 978-1-84569-326-8 (2009).

Kolektiv autorů a Svaz výrobců nealkoholických nápojů: Pravidla správné výrobní a hygienické praxe pro výrobce nealkoholických nápojů, Potravinářská komora ČR (2002) http://www.foodnet.cz/soubor.php?id=244&kontrola=3c71d4017492c0cc4a280a4f76187d77.

Šístková I., Horsáková I., Čížková H.: Smyslové vady nealkoholických nápojů. Výživa a potraviny, 2, str. 36-39 (2015).

World Health Organization: BENZOIC ACID AND SODIUM BENZOATE, Concise International Chemical Assessment Document 26, Geneva (2000) www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26_rev_1.pdf

R 11

HODNOCENÍ KVALITY A AUTENTICITY JEDNODRUHOVÝCH BYLINNÝCH ČAJŮ

Prchalová J.,[1] Rajchl A.[1]
[1)] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav konzervace potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

V posledních letech lze pozorovat zvyšující se zájem o léčivé byliny. Nejrozšířenější použití bylin je v podobě bylinných čajů, které patří k tradičním nápojům po celém světě. Čaje z léčivých bylin se připravují ze směsi z čerstvých i sušených bylin nebo z jedné byliny. K přípravě bylinných čajů jsou užívány různé části bylin, přičemž účinné látky jsou v bylině zastoupeny nerovnoměrně.[1] Vyhláška 330/1997 Sb. definuje bylinný čaj jako „čaj z části bylin nebo jejich směsí uvedených ve vyhlášce nebo bylin s pravým čajem nebo jejich směsí s ovocem, přičemž obsah bylin musí činit minimálně 50 % hmotnosti“. [2]

Bylinné čaje obsahují různorodé skupiny látek, jako jsou fenolové a terpenické sloučeniny, alkaloidy, glykosidy, apod. Kvalita bylinných čajů je určena zejména přítomností fenolových a terpenických sloučenin, které jsou většinou součástí silic.[3] Obsah a zastoupení účinných látek v bylinných čajích je velmi variabilní v závislosti na druhu byliny, geografickém původu, a způsobu jejich zpracování. U kvality bylinných čajů je velmi důležitá jejich zdravotní nezávadnost, která často souvisí s podmínkami pěstování, zpracování a skladování. Byliny a výrobky z nich mohou být také předmětem falšování, jako je chybné označení botanického druhu byliny, přídavkem nedeklarovaného bylinného druhu apod.[4]

V současné době existuje mnoho metod pro hodnocení kvality a autenticity bylinných čajů, např. separační techniky (CE, GC, HPLC), imunochemické metody (PCR, ELISA), přičemž tyto techniky jsou často náročné z časového a finančního hlediska . Vhodnou alternativou těchto metod pro hodnocení kvality a autenticity jednodruhových bylinných čajů může být technika DART (Direct Analysis in Real Time). Výhodou techniky DART/TOF-MS je zejména krátká doba analýzy a možnost analýzy i složitějších směsí bez předchozí úpravy [5]

Cíle práce

Hlavním cílem této práce byl vývoj, optimalizace a validace metody přímé analýzy v reálném čase ve spojení s TOF-MS, za účelem získání metabolomického profilu látek přítomných v jednodruhových bylinných čajích. Získané fingerprinty byly statisticky zpracovány vícerozměrnými statistickými metodami, jako je klastrová analýza (CA), analýza hlavních komponent (PCA) a lineární diskriminační analýza (LDA).

Vzorky

Analyzováno bylo 28 vzorků jednodruhových bylinných čajů: heřmánek (*Matricaria chamomila* L.), fenykl (*Foeniculum vulgare* Mill.), kopřiva (*Urtica dioica* L.), lípa (*Flos tiliae* Mill.), máta (*Mentha piperita* L.), mateřídouška (*Thymus serpyllum* L.), meduňka (*Melissa officinalis* L.), měsíček (*Calendula officinalis* L.), šípek (*Rosa canina* L.), šalvěj (*Salvia officinalis* L.), třezalka (*Hypericum perforatum* L.). Všechny vzorky byly zakoupeny v lékárnách České republiky. Botanická klasifikace bylin pro analyzované jednodruhové bylinné čaje je uvedena v Tab. č. 1.

Tab. č. 1 - Botanická klasifikace analyzovaných vzorků jednodruhových bylin

Bylina	Řád	Čeleď	Rod
Fenykl	*Apiales*	*Apiaceae*	*Foeniculum*
Heřmánek	*Asterales*	*Asteraceae*	*Matricaria*
Kopřiva	*Rosales*	*Urticaceae*	*Urtica*
Lípa	*Malvales*	*Malvaceae*	*Tilia*
Máta	*Lamiales*	*Lamiaceae*	*Mentha*

Mateřídouška	*Lamiales*	*Lamiaceae*	*Thymus*
Meduňka	*Lamiales*	*Lamiaceae*	*Melissa*
Měsíček	*Asterales*	*Asteraceae*	*Calendula*
Šalvěj	*Lamiales*	*Lamiaceae*	*Salvia*
Šípek	*Rosales*	*Rosaceae*	*Rosa*
Třezalka	*Malpighiales*	*Hypericaceae*	*Hypericum*

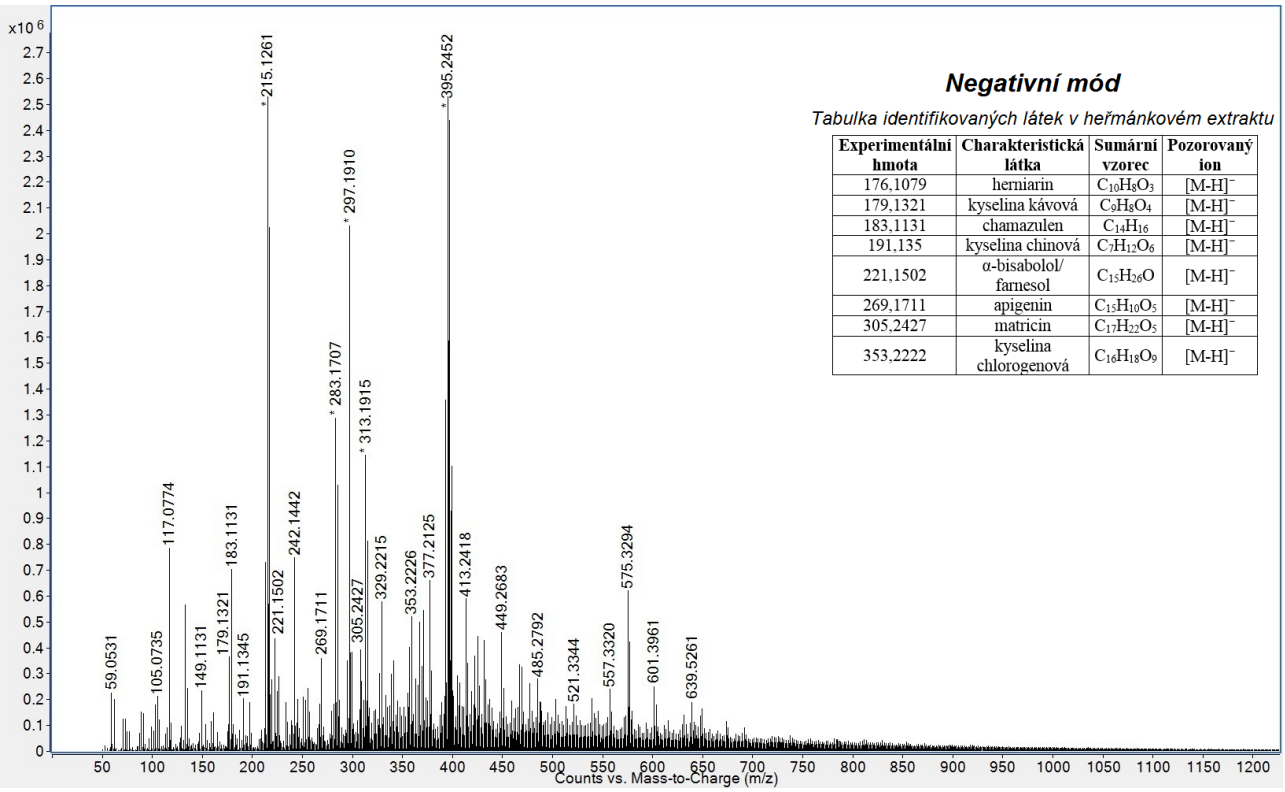
Příprava vzorků bylinných čajů pro metodu DART/TOF-MS

Bylo naváženo 0,5 g jednodruhového bylinného čaje, který byl homogenizován s 3 ml demineralizované vody, methanolu a toluenu pomocí laboratorního mixéru (ultra-torraxu).. Takto připravené vzorky byly použity pro kvalitativní analýzu metodou DART/TOF-MS. Každý vzorek byl analyzován ve čtyřech opakováních.

Výsledky a diskuze

Technika DART/TOF-MS byla použita pro rychlý screening analyzovaných jednodruhových bylinných čajů. Optimalizovány byly následující parametry: měřící mód, ionizační teplota a způsob extrakce. Jednodruhové bylinné čaje byly měřeny v positivním a negativním módu. Na rozdíl od positivního módu, negativní mód poskytoval bohaté spektrum obsahující charakteristické ionty příslušející fenolovým, flavonoidním a terpenickým látek aj. U jednodruhových bylinných čajů byla sledována intenzita signálů iontů vybraných sloučenin v rozmezí ionizačních teplot od 250 do 500 °C s krokem 50 °C. Optimální teplota ionizace byla stanovena na 350 °C, kde byl pozorován nejlepší poměr signálů iontů k šumu. Příprava vzorků jednodruhových bylinných čajů spočívala v rychlé extrakci, jako extrační činidlo byla zkoušena demineralizovaná voda, methanol a toluen. Skladba iontů v hmotnostních spektrech byla stejná jak pro vodu tak methanol, zatímco toluen se ukázal jako nevhodné extrakční činidlo pro identifikaci vybraných látek v jednodruhových bylinných čajů.

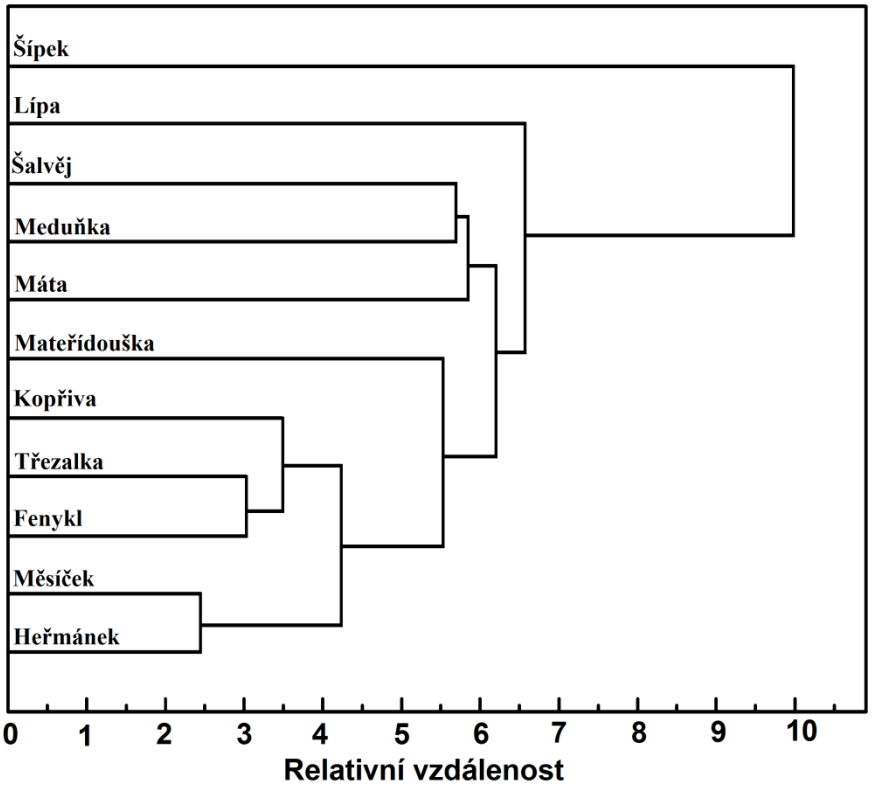
Na Obr. č. 1. je uvedena ukázka hmotnostního spektra sušeného heřmánku. Identifikované látky jsou uvedeny v tabulce na obr. č. 1.



Experimentální hmota	Charakteristická látka	Sumární vzorec	Pozorovaný ion
176,1079	herniarin	$C_{10}H_8O_3$	$[M-H]^-$
179,1321	kyselina kávová	$C_9H_8O_4$	$[M-H]^-$
183,1131	chamazulen	$C_{14}H_{16}$	$[M-H]^-$
191,135	kyselina chinová	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$
221,1502	α-bisabolol/ farnesol	$C_{15}H_{26}O$	$[M-H]^-$
269,1711	apigenin	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$
305,2427	matricin	$C_{17}H_{22}O_5$	$[M-H]^-$
353,2222	kyselina chlorogenová	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$

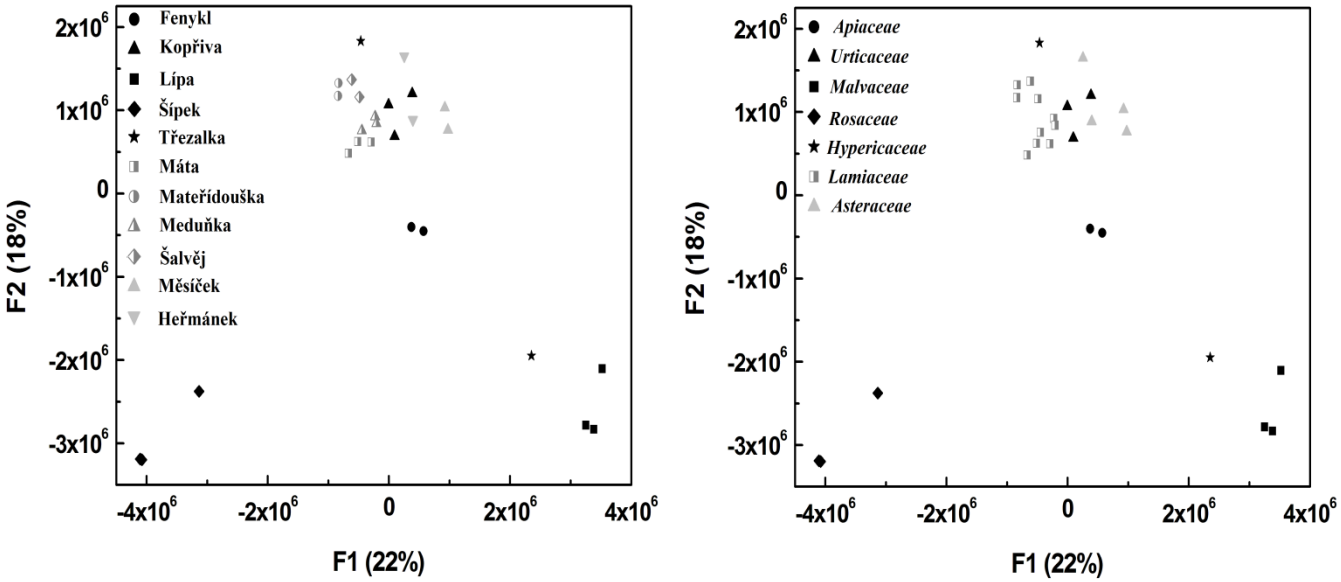
Obr. č. 1 - Hmotnostní spektrum (negativní mód, ionizační teplota 350 °C) heřmánkového extraktu

Hmotnostní spektra jednodruhových bylinných čajů byla statisticky zpracována klastrovou analýzou (CA) v programu The Unscrambler X10.1 (viz Obr. č. 2), kdy došlo ke shlukování bylin podle taxonomické příbuznosti.



Obr. č. 2 - Klastrová analýza jednodruhových bylinných čajů

Z obrázku č. 2 je patrné, že v klastrové analýze vytvořila samostatnou skupinu heřmánek-měsíček (čeleď *Asteraceae*) máta-mateřídouška-meduňka-šalvěj (čeleď *Lamiaceae*), (viz Tabulka č. 1).



Obr. č. 3 - Analýza hlavních komponent jednodruhových bylinných čajů

PCA analýza jednodruhových bylinných čajů rozdělila jednodruhové bylinné čaje do jednotlivých skupin (viz Obr. č. 3). Fenykl (čeleď *Apiaceae*), heřmánek-měsíček (čeleď *Asteraceae*), kopřiva (čeleď *Urticaceae*), lípa (čeleď *Malvaceae*), máta-mateřídouška-meduňka-šalvěj (čeleď *Lamiaceae*), třezalka (čeleď *Hypericaceae*) a šípek (čeleď *Rosaceae*) vytvořila samostatný kompaktní klastr. Vzorky kopřivy, máty-mateřídoušky-meduňky-šalvěje a třezalky se shlukují, což může být způsobeno tím, že tyto jednodruhové bylinné čaje patří do stejné čeledě, což ukazuje na to, že v rámci jedné čeledi lze očekávat obdobné charakteristické látky obsažené v analyzovaných vzorcích. Od klastru kopřivy, máty-mateřídoušky-meduňky-šalvěje a třezalky se zcela oddělily skupiny šípku a fenyklu (vyrobeny z plodu byliny) a také heřmánek-měsíček a lípa (vyrobeny z květu byliny).

Závěr

DART/TOF-MS technika je účinným nástrojem pro hodnocení kvality a autenticity jednodruhových bylinných čajů. Technika DART/TOF-MS je vhodná pro rychlý screening, a to zejména rychlou kontrolu kvality vstupních surovin, mezioperační kontrolu a výstupní kontrolu finálních výrobků. Potenciál této techniky spočívá zejména ve spojení se zpracováním naměřených dat pomocí vícerozměrných statistických analýz, jako je klastrová analýza, analýza hlavních komponent a lineární diskriminační analýza. Pomocí vícerozměrných statistických metod bylo zjištěno, že jednodruhové bylinné čaje se shlukují podle taxonomické příbuznosti bylin.

Výsledky ukazují, že vyvinutá metodika s využitím DART/TOF-MS je vhodná, jak pro identifikaci charakteristických sloučenin obsažených v jednodruhových bylinných čajích, tak i pro potenciální odlišení jednotlivých bylin.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2016): A1_FPBT_2016_002.

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015): A2_ FPBT_2015_008.

Seznam použité literatury

1. Pripdeevech, P.; Machan, T. Fingerprint of volatile flavour constituents and antioxidant activities of teas from Thailand. *Food Chemistry*, **2011**, *125*, 797-802.
2. Vyhláška Ministerstva Zemědělství č. 330/1997 Sb., §18 zákona č. 110/1997 Sb.
3. Timóteo, P.; Karioti, A.; Leitão, S.G.; Vincieri, F.F.; Bilia, A. R. A validated HPLC method for the analysis of herbal teas from three chemotypes of Brazilian *Lippia alba*. *Food Chemistry*, **2015**, *175*, 366-373.
4. Lasekan, O.; Lasekan, A. Flavour chemistry of mate and some common herbal teas. *Trends in Food Science & Technology*, **2012**, *27*, 37-46.
5. Deng, J.; Fan, Ch.; Yang, Y. Identification and determination of the major constituents in Deng's herbal tea granules by rapid resolution liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2011**, *56*, 928-936.
6. Hajšlová, J.; Čajka, T.; Václavík, L. Challenging applications offered by direct analysis in real time (DART) in food-quality and safety analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, **2011**, *30*, 204-218.

R 12

POROVNÁNÍ VYBRANÝCH KVALITATIVNÍCH PARAMETRŮ JABLEK Z EKOLOGICKÉ A INTEGROVANÉ PRODUKCE

Kouřimská L.[1], Dresslerová I.[2], Sus J.[3]
[1)] Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchdol
[2)] Katedra kvality zemědělských produktů, ČZU v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchdol
[3)] Katedra zahradnictví, ČZU v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchdol

Abstrakt

V poslední době roste význam ekologického a integrovaného způsobu produkce, zejména z důvodu zájmu o udržitelnost životního prostředí. V práci byly porovnány kvalitativní znaky deseti odlišných kultivarů jablek (Melodie, Šampion, Gloster, Idared, Angold, Topaz, Goldstar, Ontario, Florina, Rubín) z ekologické (BIO) a integrované produkce (IP). Byla zjišťována hmotnost plodů a analyzován obsah celkové a refraktometrické sušiny, majoritních mono- a disacharidů a askorbové kyseliny pomocí HPLC. Senzorické hodnocení jablek bylo provedeno profilovou metodou a párovým testem. U vzorků byl též porovnán profil těkavých aromatických látek plynovou chromatografií.

V obsahu askorbové kyseliny byl shledán statisticky významný vliv odrůdy ($p = 0,0004$). Nejvyšší koncentraci askorbové kyseliny obsahovala odrůda Ontario. Nejhojněji zastoupeným sacharidem v jablkách je fruktóza, u které byl prokázán signifikantní rozdíl mezi hodnotami BIO a IP ($p = 0,0272$). Nejvyšší hodnoty tohoto monosacharidu obsahovala odrůda Angold BIO, u které byl také naměřen nejvyšší obsah celkových sacharidů. U celkové i refraktometrické sušiny byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi hodnotami BIO a IP. Mezi hmotností jablek BIO a IP byl také prokázán rozdíl ($p = 0,0002$). Při senzorické analýze byla odrůda Šampion BIO nejlépe hodnocená z hlediska celkové příjemnosti a celkové intenzity vůně. Topaz IP byl hodnocen jako vzorek s celkovou nejlepší příjemností chuti a Florina IP měla nejvyšší celkovou intenzitu chuti. Párovým testem bylo potvrzeno, že mezi vzorky existuje signifikantní rozdíl, nebyla ale potvrzena preference některého z produkčních systémů. Při analýze profilu těkavých aromatických látek bylo zjištěno, že stejná odrůda odlišné produkce má stejné složení, ale rozdílné relativní zastoupení látek v ní obsažených. Souhrnně lze konstatovat, že kvalita a složení jablek závisí na mnoha faktorech, přičemž odrůdová závislost a způsob produkce mohou patřit mezi významné činitele.

Úvod

Zájem konzumentů o organické produkty, které pocházejí z ekologického produkčního systému, je stále rostoucí. Zvýšená poptávka spotřebitelů po zdravějším ovoci, které je pěstováno šetrnějším způsobem k životnímu prostředí a které přispívá k jeho udržitelnosti, vede k rozšiřování a ke vzniku nových jablečných sadů ekologické a integrované produkce (Rigby and Caceres, 2001; Peck et al., 2005). Ekologická rostlinná produkce se řídí mimo jiné těmito pravidly: zachovat co nejvyšší obsah organických látek v půdě, s čím souvisí víceleté střídání plodin; předcházet zhutnění a erozi půdy; minimalizovat nebo nejlépe zcela zabránit negativnímu vlivu na životní prostředí. Integrovaná produkce představuje typ zemědělské produkce, která se snaží o zajištění trvale udržitelného hospodaření. Často je tento styl hospodaření chápán jako mezistupeň mezi ekologickým a konvenčním zemědělstvím. Mezi některá pravidla formující integrované hospodaření patří: nepoužívat přípravky na ochranu rostlin, které mají nespecifický účinek a tím pádem největší vliv na poškozování životního prostředí; dát k dispozici vzorky půdy na zhodnocení obsahu těžkých kovů; každoročně odebrat vzorky ovoce na stanovení obsahu těžkých kovů; sedm měsíců v roce zaznamenávat a vyhodnocovat klimatické ukazatele a monitorovat výskyt škodlivých organismů; absolvovat každoročně školení za účelem rozšíření znalostí o programu integrované produkce.

Světová produkce jablek dosáhla v roce 2007, 66 miliónů tun. Nejpěstovanějšími jablečnými kultivary jsou Delicious, Golden Delicious, McIntosh, Jonathan, Cox´s Orange Pippin, Granny

Smith a Braeburn (Hui et al., 2006). Produkce jablek je v ČR z celého sektoru ovocnářství nejdůležitější. Celková sklizeň jablek činila v roce 2014, 208 tisíc tun (Buchtová, 2015). Podle databáze FAOSTAT z roku 2011 činila průměrná konzumace jablek a výrobků z nich v České republice 11,82 kg/osobu/rok. Cílem této práce bylo vyhodnotit a srovnat kvalitativní znaky u vybraných odrůd jablek pocházejících z ekologického a integrovaného způsobu zemědělství.

Materiál a metody

Analyzovány byly následující odrůdy jablek: Melodie, Šampion, Gloster, Idared, Angold, Topaz, Goldstar, Ontario, Florina a Rubín z ekologické a integrované produkce. Jablka byla pěstována v ekologickém sadu v Šachově u Borohrádku a v Radimi u Chrudimi. Odrůdy pěstované v režimu integrované produkce pocházely z demonstračního a pokusného pozemku ČZU v Praze 6 - Suchdole. Pro porovnání rozdílů hmotností mezi jablky z ekologické a integrované produkce byla jablka zvážena na analytických vahách. Obsah askorbové kyseliny byl stanoven pomocí HPLC (kolona LiChroCart 125-4 Purospher Star RP-18e, 5 µm) s UV detekcí (254 nm), analýza mono- a disacharidů byla na HPLC s RI detektorem (kolona Agilent Hi-Plex H, 7,7 x 300 mm, 8µm). Jablečná sušina byla měřena pomocí infračervené sušicí váhy (Precisa HA 300), refraktometrická sušina byla měřena pomocí refraktometru (REF 103, Brix, 0~32 %). Párový test a senzorické hodnocení profilu bylo prováděno panelem školených hodnotitelů za použití grafické lineární nestrukturované orientované stupnice. Hodnoceny byly celková příjemnost a intenzita vůně a chuti. Profil těkavých látek byl analyzován pomocí GC/MS po sorbci na vlákno DVB/Carboxen/PDMS StableFlex.

Výsledky a diskuse

Tabulka 1 uvádí výsledky stanovení hmotnosti analyzovaných vzorků jablek, jejich sušinu, refraktometrickou sušinu a obsah askorbové kyseliny. V Tabulce 2 jsou výsledky obsahů sacharosy, glukosy a fruktosy. Všech 10 zkoumaných odrůd BIO mělo menší průměrnou hmotnost plodu v porovnání s IP a byl potvrzen statisticky významný rozdíl mezi těmito způsoby produkce ($p = 0,0003$). Roth et al. (2007) uvádí, že BIO jablka mají menší velikost ve srovnání s ostatními produkčními systémy z důvodu menších buněk a menšího intracelulárního prostoru. Obsah sušiny byl v sedmi případech vyšší u BIO produkce. Odrůda s nejvyšším obsahem sušiny byla Florina BIO (18,62 %), naopak nejnižšího množství dosáhl Idared IP (12,54 %). Průměrná hodnota jablečné sušiny byla 15,69 %, což je ve shodě s hodnotou 16,30 %, kterou uvádí Hanousek (2006). Rozdíl mezi BIO a IP byl statisticky signifikantní ($p = 0,0469$).

Obsah askorbové kyseliny v jablkách závisí na mnoha faktorech, mimo jiné na odrůdě, typu produkce a roku sklizně (Nagy et al., 2013). Kopec (1998) uvádí průměrný obsah askorbové kyseliny 48 mg/kg, Velíšek a Hajšlová (2009) 15-50 mg/kg jablek a Databáze složení potravin ČR (www.NutriDatabase.cz) 93 mg/kg jedlého podílu jablka. U námi testovaných vzorků byla nejvyšší koncentrace zjištěna u odrůdy Ontario BIO (130 mg/kg) a Ontario IP (103 mg/kg), což je ve shodě s Dvořákem a kol. (1976), který uvádí, že odrůda Ontario obsahuje vyšší množství vitaminu C. Nejmenší množství obsahovala jablka odrůd Šampion IP (10 mg/kg) a Gloster BIO (13 mg/kg). Dvoufaktorovou analýzou rozptylu s interakcemi byl zjištěn průkazný vliv odrůdy na obsah vitaminu C ($p = 0,0004$).

Podle výsledků obsahu sacharidů obsahovalo 8 odrůd BIO produkce vyšší množství v porovnání s IP. Nejvyšší celkový obsah zkoumaných sacharidů obsahovala odrůda Angold BIO. Nejméně zastoupeným sacharidem byla sacharosa, dále pak glukosa a fruktosa, které bylo nejvíce. Podle Kopce (1998) obsahuje1 kg jablek v průměru 144 g sacharidů. Párovým testem bylo zjištěno, že existuje statisticky významný rozdíl ($p = 0,0272$) mezi hodnotami obsahu fruktózy u BIO a IP. U sacharózy ani glukózy toto nebylo prokázáno. Výpočtem korelačních koeficientů byla zjištěna středně silná závislost mezi obsahem glukosy a fruktosy ($r = 0,6480$), jakož i sacharosy a fruktosy ($r = 0,4192$).

Osm BIO odrůd z deseti, obsahovalo více refraktometrické sušiny v porovnání s odrůdami IP. Nejvyšších hodnot dosáhly odrůdy Goldstar BIO, Otario IP a oba produkční systémy kultivaru Florina. Naměřené hodnoty refraktometrické sušiny se pohybovaly od 11 do 17 Brix, což bylo nepatrně více, než uvádí Hui et al. (2006) (9-15 Brix). Při korelaci refraktometrické sušiny

s celkovým obsahem cukrů v jablkách, nebyla prokázána závislost (r = 0,1420). Rozdíl mezi BIO a IP v obsahu refraktometrické sušiny nebyl shledán významným (p = 0,0866).

Z výsledků senzorického hodnocení vyplynulo, že celkovou nejpříjemnější vůni měl Šampion BIO (71 %), naopak nejméně příjemnou Rubín BIO (37 %). Největší celkové intenzity vůně dosáhl Šampion BIO (67 %), nejmenší Ontario BIO (32 %). V celkové příjemnosti chuti byl jako nejlepší posuzován Topaz IP (74 %) a celkově nejméně příjemnou vůni měl Idared IP (28 %). Celková intenzita chuti dosáhla nejvyšších hodnot u kultivaru Florina IP (73 %) a nejnižších u odrůdy Goldstar BIO (45 %). Odrůdy Šampion a Florina měly nejvíce odlišné hodnocení v závislosti na způsobu produkce. Párovým testem byl prokázán rozdíl mezi ekologickou a integrovanou produkcí, nebyla ale prokázána preference pro jeden typ produkce.

Analýzou profilu těkavých látek byly detekovány tyto sloučeniny: ethyl-butanoát, hexanal, butyl-acetát, ethyl-2-methylbutyrát, (E)-hex-2-enal, hexan-1-ol, 2-methylbutyl-acetát, butyl-butyrát, ethyl-hexanoát, hexyl-acetát, hexyl-propionát, pentyl-2-methyl-pentanoát, hexyl-hexanoát a (E,E)-α-farnesen. Bylo zjištěno, že stejná odrůda rozdílné produkce se neliší ve složení, ale v relativním obsahovém zastoupení těchto látek mezi ekologickou a integrovanou produkcí. Právě toto může mít vliv na celkový „flavour“ vzorku a na výsledky senzorického hodnocení.

Tabulka 1: Hmotnost plodu, sušina, refraktometrická sušina a obsah askorbové kyseliny u hodnocených vzorků z ekologické (BIO) a integrované produkce (IP)

Vzorek odrůda/produkce	**Hmotnost 1 plodu (g)**	**Obsah sušiny (% m/m)**	**Refr. sušina (°Brix)**	**Askorbová kyselina (mg/kg)**
Melodie BIO	117	14,70	14,0	66
Melodie IP	167	13,91	12,6	43
Šampion BIO	126	15,85	14,2	22
Šampion IP	177	13,42	12,0	10
Gloster BIO	140	16,90	14,0	13
Gloster IP	195	13,06	12,0	18
Idared BIO	148	14,07	12,2	32
Idared IP	149	12,54	11,3	45
Angold BIO	123	17,53	14,8	58
Angold IP	172	14,11	12,0	32
Topaz BIO	113	17,74	16,0	78
Topaz IP	155	14,55	13,0	48
Goldstar BIO	114	18,51	17,0	54
Goldstar IP	148	13,76	12,0	33
Ontario BIO	128	17,90	15,0	140
Ontario IP	149	18,65	17,0	103
Florina BIO	133	18,62	16,8	24
Florina IP	148	18,73	17,0	17
Rubín BIO	144	13,44	12,7	28
Rubín IP	163	15,90	14,5	68

Tabulka 2: Obsahy sacharosy, glukosy a fruktosy u hodnocených vzorků z ekologické (BIO) a integrované produkce (IP)

Vzorek odrůda/produkce	**Sacharosa (g/kg)**	**Glukosa (g/kg)**	**Fruktosa (g/kg)**	**Součet (g/kg)**
Melodie BIO	27,4	59,0	97,6	184,1
Melodie IP	14,6	36,3	113,5	164,5
Šampion BIO	10,9	57,0	120,9	188,8
Šampion IP	18,0	40,5	107,9	166,4
Gloster BIO	19,7	94,3	154,6	251,5
Gloster IP	42,8	83,8	96,5	223,2
Idared BIO	12,7	42,3	104,8	159,7
Idared IP	19,6	34,7	74,6	129,0
Angold BIO	73,7	74,2	274,4	422,3
Angold IP	56,4	76,3	218,6	351,3
Topaz BIO	65,6	34,0	79,4	179,0
Topaz IP	30,2	37,7	69,7	137,6
Goldstar BIO	46,5	51,8	107,5	205,8
Goldstar IP	26,6	43,7	82,1	152,4
Ontario BIO	34,4	44,0	116,5	194,8
Ontario IP	34,4	48,3	116,4	199,1
Florina BIO	52,5	48,6	104,2	205,3
Florina IP	49,8	48,6	110,3	208,7
Rubín BIO	22,8	35,7	97,6	156,1
Rubín IP	26,2	27,1	54,5	107,8

Závěr

Při porovnání jablek z ekologické a integrované produkce byl zjištěn statisticky významný vliv odrůdy na obsah askorbové kyseliny. U celkové a refraktometrické sušiny byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými produkčními systémy, jakož i mezi hmotností plodů. Při senzorické analýze bylo zjištěno, že mezi vzorky BIO a IP existuje rozdíl, nebyla ale potvrzena preference některého z produkčních systémů. Analýza profilu těkavých aromatických látek ukázala, že stejná odrůda odlišné produkce má stejné složení, ale rozdílné relativní zastoupení látek. Souhrnně lze konstatovat, že kvalita a složení jablek závisí na mnoha faktorech, přičemž odrůdová závislost a způsob produkce mohou patřit mezi významné činitele.

Poděkování

Práce byla vypracována v rámci “S grantu” MŠMT ČR.

Literatura

Rigby, D., Caceres, D. 2001. Organic farming and the sustainability of agricultural systems. Agricultural Systems, 68 (1), 21-40.

Peck, G.M., Andrews, P.K., Richter, C., Reganold, J.P. 2005. Internationalization of the organic fruit market: The case of Washington State's organic apple exports to the European Union. Renewable Agriculture and Food Systems, 20 (2), 101-112.

Hui, Y.H., Barta, J., Cano, M.P., Gusek, T.W., Sidhu, J.S., Sinha, N. 2006. Handbook of Fruits and Fruit Processing. Wiley-Blackwell, 697 p. ISBN: 978-0-8138-1981-5.

Buchtová, I. 2015. Situační výhledová zpráva. Ovoce. Ministerstvo zemědělství, Praha, 84 s. ISBN: 978-80-7434-259-2.

Roth, E., Berna, A., Beullens, K., Yarramraju, S., Lammertyn, J., Schenk, A., Nicolai, B. 2007. Postharvest quality of integrated and organically produced apple fruit. Postharvest Biology and Technology, 45 (1), 11-19.

Hanousek, M. 2006. Domácí výroba moštů. Grada Publishing, Praha, 75 s. ISBN: 80-247-1445-0.

Nagy, P.T., Biro, T., Nyeki, J., Szabo, Z. 2013. Comparative study of organic and integrated apple growing: differences in fruit nutrition. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 44 (1-4), 678-687.

Kopec, K. 1998. Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 72 s. ISBN: 80-86153-64-9.

Velíšek, J., Hajšlová J. 2009. Chemie potravin I. OSSIS, Tábor, 602 s. ISBN: 978-80-86659-15-2.

Dvořák, A., Vondráček, J., Kohout, K., Blažek, J. 1976. Jablka. Academia, Praha, 592 s.

R 13

CHARAKTERIZACE BOTANICKY ODLIŠNÝCH DRUHŮ BORŮVEK A POSOUZENÍ AUTENTICITY BORŮVKOVÝCH DŽEMŮ Z TRŽNÍ SÍTĚ

Neradová E., Zíková A., Kvasnička F., Čížková H.
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav konzervace potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

Problematika falšování a detekce autenticity výrobků z ovoce je v současnosti stále aktuální. Mezi spotřebitelsky oblíbené a často zpracovávané bobulové ovoce patří borůvky kvůli jejich senzorickým vlastnostem, ale také pro jejich pozitivní účinky na zdraví (antioxidační vlastnosti, léčba střevních obtíží, zánětů močových cest). Mezi nejznámější druhy borůvek patří lesní borůvky (*Vaccinium myrtillus* L.) a kanadské borůvky (*Vaccinium corymbosum* L.),

Čeleď Ericaceae (vřesovcovité), rod *Vaccinium* (brusnice) zahrnuje asi 400 různých druhů borůvek. Existuje však mnoho dalších genotypů, kříženců a odrůd. Celosvětový výnos kanadských a lesních borůvek je 500 tisíc tun ročně. Jako borůvky se někdy prodávají i jiné botanicky odlišné rostliny, které tvarem a barvou plodu připomínají borůvku a mohou být i borůvkou nazývány; např. borůvka kamčatská (*Lonicera kamtschaticum*) nebo borůvka amelanchierova (*Amelanchier canadensis*).

Borůvka kamčatská je v literatuře nejčastěji pojmenována jako zimolez modrý (*Lonicera caerula var. kamtschaticum*) a zimolez kamčatský (*Lonicera kamtschatica*). Kamčatská borůvka patří do čeledi Caprifoliaceae (zimolezovité). Ostatní druhy zimolezů však mají jedovaté plody a pěstují se jako okrasné keře. Tyto husté keře jsou původem z Asie a dosahují výšky až 1,5 m. Plody kamčatské borůvky mají modro-fialovou barvu a jsou ojíněné. Chuť plodů je sladko-kyselá, avšak některé odrůdy mohou mít až nepříjemně hořkou chuť. Jedná se o první ovoce, které lze po zimě sklidit – dozrávají začátkem května. Některé odrůdy plodí i dvakrát za sezonu. Výhodou těchto keřů je také to, že jsou nenáročné na živiny a odolné vůči mrazu. Od lesních a kanadských borůvek se liší především v přítomnosti sorbitolu, vysokém obsahu minerálních látek a vyšším celkovém obsahu kyselin a cukrů.

Borůvka amelanchierova je v literatuře označována i jako muchovník, rozinkovník, indiánská borůvka či borůvka Heidi. Amelanchierova borůvka patří do čeledi Rosaceae (růžovité) společně s jablky, aronií, jeřáby, mišpulí a kdoulí. Keř či strom je původem ze severní Ameriky a některé druhy dorůstají až 5 m. Plody jsou postupně dozrávající ojíněné malvice s tmavě fialovou barvou, na kterých je patrný zbytek kalichu. Plody jsou sladké, mírně trpké a uvnitř plodů jsou semínka. Výhodou amelanchierových borůvek je nenáročnost na živiny, odolnost vůči mrazu a zároveň plodnost až 50 let se sklizní až 12 kg plodů/rok. Nejznámějšími druhy pěstovanými kvůli ovoci jsou: muchovník kanadský (*Amelanchier canadensis),* muchovník olšolistý (*Amelanchier lamarckii*), muchovník klasnatý (*Amelanchier spicata*), muchovník oválný (*Amelanchier ovalis*) a muchovník hladký (*Amelanchier laevis*). Od lesních a kanadských borůvek se liší především v přítomnosti sorbitolu, vysokém obsahu minerálních látek, vyšším obsahu cukrů a nižším obsahu kyselin.

Chemické složení borůvek jako výchozí suroviny je ovlivněno velkým množstvím faktorů, a to zejména druhem a odrůdou, geografickou polohou pěstování, počasím, stupněm zralosti, půdními podmínkami a hnojením. Samotné výrobky z borůvek (džemy, borůvkové náplně, dětské ovocné výživy, šťávy) pak mohou mít odlišné vlastnosti od čerstvého ovoce vlivem technologického zpracování, použití různých činidel a aditivních látek, balení a skladování. Pro ověření autenticity výrobků z borůvek bylo potřeba nejprve charakterizovat vstupní surovinu určením typických znaků jiných druhů borůvek, ověřením přirozené variability a změn ve složení.

Vzorky

V sezoně 2015 bylo analyzováno 7 autentických vzorků botanicky odlišných druhů borůvek. Z toho byly 3 vzorky borůvek amelanchierových a 4 vzorky borůvek kamčatských (malé množství

dvou druhů kamčatských borůvek). Dále bylo analyzováno 6 vzorků borůvkových džemů zakoupených v obchodní síti České republiky se složením uvedeným v tabulce 1.

Tab. 1 Popis měřených vzorků borůvkových džemů

Název vzorku	Označení	Deklarovaný ovocný podíl (g ovoce/100 g výrobku)	Typ borůvek
Hamé Džem jablečno-borůvkový	**Vzorek 1**	35 (jablka 20 %, borůvky 15 %)	Nespecifikováno
Borůvky Indiánské Bioláda – džem výběrový speciální	**Vzorek 2**	98 (muchovník 49 %, jablečný koncentrát 49 %)	Muchovník
Stilla Dolce Blueberry – Ovocná borůvková pomazánka	**Vzorek 3**	35 (borůvky 35 %)	Nespecifikováno
Prima Frutta Myrtilli neri - Extra Džem borůvka	**Vzorek 4**	50 (borůvky 50 %)	Borůvka lesní
Abbaye de sept-fons Myrtilles suvages – Džem výběrový (extra)	**Vzorek 5**	55 (borůvky 55 %)	Nespecifikováno
Merry borůvka – Džem výběrový (extra)	**Vzorek 6**	50 (borůvky 50 %)	Nespecifikováno

Metody

Mezi základní kvalitativní znaky a markery autenticity, které byly vybrány pro charakterizaci vstupní suroviny, patřily: rozpustná sušina, titrační kyselost, formolové číslo, profil sacharidů (glukosa, fruktosa, sacharosa, sorbitol) a kyselin (kyselina citronová, jablečná, chinová, šikimová, isocitronová), obsah a profil minerálních látek (popel, fosfor, draslík, vápník, hořčík) a charakteristický profil anthokyanových barviv. Dále byly borůvky (včetně vzorků lesních a kanadských borůvek z předchozí studie[1]) ověřovány na přítomnost floridzinu. Shodné markery byly měřeny u borůvkových džemů, avšak některé vzhledem k technologii výroby džemů nelze při odhadu ovocného podílu započítat (refraktometrickou sušinu, titrační kyselost, kyselinu citronovou, sacharosu, glukosu, fruktosu).

Výsledky a diskuze

Jedním z cílů bylo určit typické znaky odlišných druhů borůvek, ověřit přirozenou variabilitu a změny ve složení. Výsledky autentických vzorků borůvek byly srovnány s literaturou a po zhodnocení variability a potenciálních vlivů byla navržena předběžná referenční hodnota pro posouzení autenticity (Tab. 2).

Vzhledem k malému množství dvou druhů kamčatských borůvek byly tyto vzorky analyzovány pouze na charakteristický profil anthokyanových barviv. Pro některé markery nejsou uvedeny hodnoty rozsahu z literatury především kvůli k její nedostupnosti (zejména u kamčatské borůvky, která je původem z Asie). Naměřené hodnoty kamčatských a amelanchierových borůvek byly statisticky porovnány pomocí analýzy rozptylu na hladině významnosti $\alpha=0,5$ s hodnotami pro lesní a kanadské borůvky[1].

Další z cílů bylo určit charakteristický profil anthokyanových barviv kamčatských a amelanchierových borůvek. Z tabulky 3 je patrné, že profil kamčatských a amelanchierových borůvek je odlišný od profilu lesních a kanadských borůvek. Profil anthokyanů naměřených vzorků džemů byl porovnán s charakteristickým profilem pro jednotlivé druhy borůvek[1]. V tabulce 3 jsou uvedeny příklady pro hodnocení vzorku džemu 1 a 2 založených na procentuálním zastoupení jednotlivých anthokyanů, také ostatní džemy byly vyhodnoceny obdobným způsobem. Vzorky 1 a 4 jsou pravděpodobně vyrobeny z lesních borůvek (vzorek 1 - 107±30, vzorek 4 - 98±10). Podle očekávání vzorek 2 neodpovídá ani lesním, kanadským a kamčatským borůvkám, naopak odpovídá profilu amelanchierových borůvek (vzorek 2 - 110±27). Vzorky 3, 5 a 6 mohou být vyrobeny z lesních borůvek (vzorek 3 - 82±33, vzorek 5 - 84±12, vzorek 6 - 72±40), avšak může se jednat i o směsi lesních borůvek s kanadskými (vzorek 3 - 104±30, vzorek 5 - 99±40, vzorek 6 - 97±42).

Tab. 2 Zhodnocení přirozené variability a navržení středních hodnot markerů pro posuzování autenticity výrobků z borůvek (pro kamčatské a amelanchierovy borůvky)

Marker	Kamčatské borůvky (n=2)			Amelanchierovy borůvky (n=3)		
	Průměr	Naměřené rozsahy vzorků borůvek	Rozsahy z literatury	Průměr	Naměřené rozsahy vzorků borůvek	Rozsahy z literatury
Rozpustná sušina (°Brix)	11,4	11,2 – 11,6	12,6 – 13,5	18,6[a,b]	15,7 – 20,3	14,2 – 18,8
Titrační kyselost (g kys. citronové/kg)	19,3[a,b]	17,2 – 21,3	22,8 – 27,9	8,9	8,6 - 9,3	3,1 – 4,8
Formolové číslo (ml 0,1 M NaOH/100g)	7,7	0,0 – 15,3		11,2[a]	4,1 – 15,3	8,9 – 11,1
Glukosa (g/kg)	30,7[b]	30,5 – 30,8		43,3[a]	31,2 – 52,9	50,0 – 60,0
Fruktosa (g/kg)	31,7[b]	31,3 – 32,0		43,3	31,8 – 51,8	50,0 – 70,0
Sacharosa (g/kg)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	1,6 – 1,8
Sorbitol (mg/kg)	45,3[a,b]	45,2 – 45,3		45,2[a,b]	45,1 – 45,3	44,0 – 47,1
Kys. citronová (g/kg)	21,6[a,b]	20,8 – 22,3		0,4[a,b]	0,2 – 0,4	
Kys. jablečná (g/kg)	1,9[b]	1,5 – 2,3		7,5[a,b]	6,0 – 8,3	
Kys. chinová (g/kg)	2,1[a]	1,9 – 2,3		0,2[a]	0,1 – 0,2	
Kys. šikimová (mg/kg)	9,8[a]	8,5 – 11,1		100,2[b]	76,7 – 114,3	
Kys. isocitronová (mg/kg)	63,4[a]	57,0 – 69,9		11,2[b]	7,2 – 16,1	
Popel (g/kg)	5,4[a,b]	4,9 – 5,8	3,3 – 4,3	9,1[a,b]	8,1 – 10,5	5,9 – 6,7
Fosfor (mg/kg)	305[a,b]	263 – 348	170 - 240	387[a,b]	317 – 435	411 – 480
Draslík (g/kg)	2,4[a,b]	1,9 – 2,8	1,1 – 1,5	3,2[a,b]	3,0 – 3,3	2,7 – 4,3
Vápník (mg/kg)	264	188 – 340	140 - 520	1232[a,b]	958 – 1777	620 – 846
Hořčík (mg/kg)	106[b]	98 – 115	80 – 150	310[a,b]	256 – 351	210 – 316
Floridzin (mg/kg)	ND	ND	-	ND	-	-

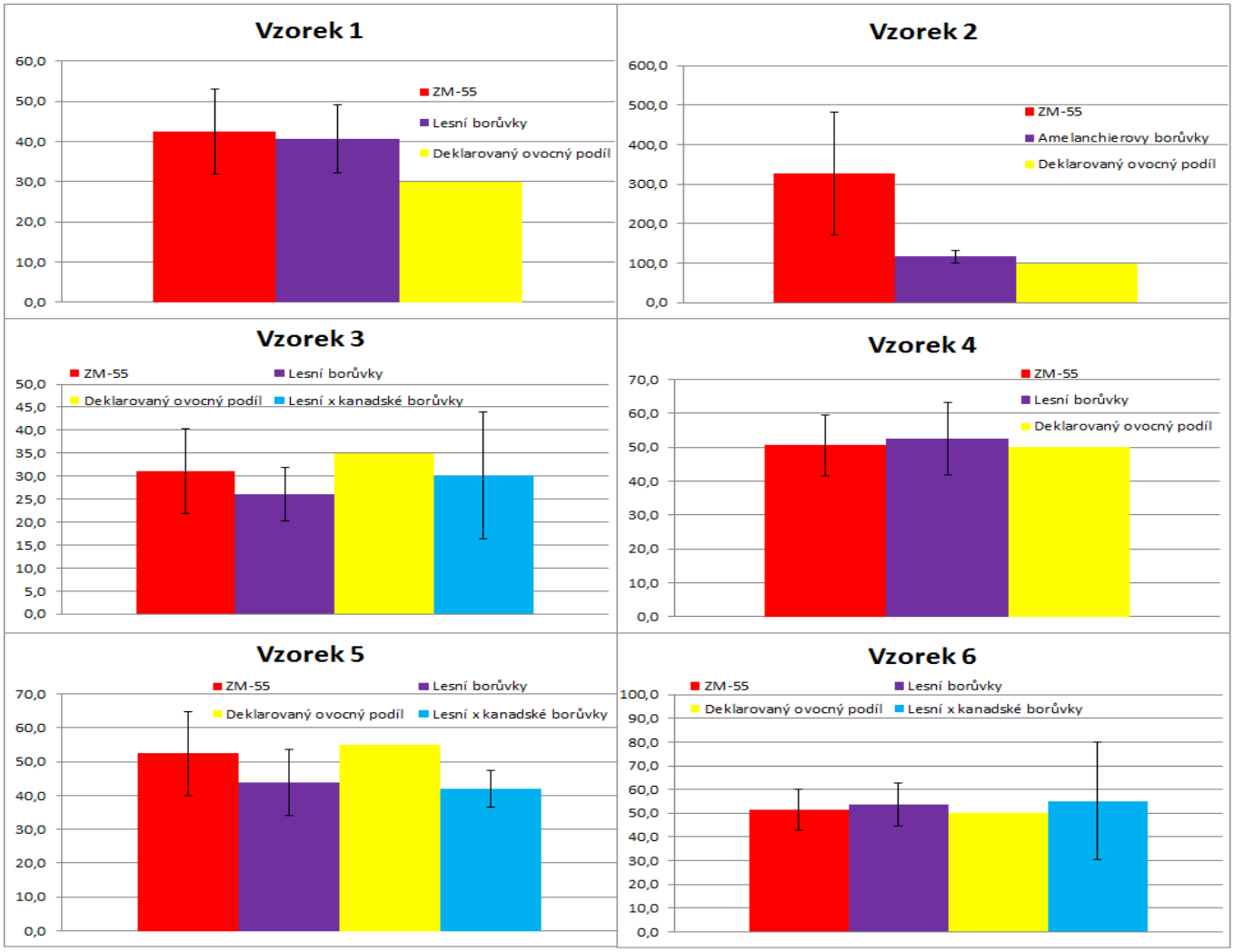
Pozn.: a) U průměrné hodnoty (v příslušném sloupci pro kamčatské či amelanchierovy borůvky) jsou označeny markery se statisticky významným rozdílem na hladině významnosti α=0,5 porovnaným s lesními borůvkami (ANOVA).
b) U průměrné hodnoty (v příslušném sloupci pro kamčatské či amelanchierovy borůvky) jsou označeny markery se statisticky významným rozdílem na hladině významnosti α=0,5 porovnanými s kanadskými borůvkami (ANOVA).

Tab. 3 Zhodnocení charakteristického profilu anthokyanových barviv pro vzorek džemů VZ1 a VZ2 (procentuální shoda zastoupení jednotlivých anthokyanů)

	Profil anthokyanů jednotlivých druhů borůvek				Vzorek 1				Vzorek 2			
ANTHOKYAN	LES	KAN	AM	KAM	**LES**	KAN	AM	KAM	LES	KAN	**AM**	KAM
dp-3-gal	12	10,5	-	-	**101**	116	-	-	-	-	**-**	-
dp-3-glc	15	2,2	-	-	**78**	529	-	-	-	-	**-**	-
cy-3-gal	8,8	7,1	-	-	**97**	120	-	-	-	-	**-**	-
dp-3-ara	7,3	3	56,7	-	**177**	425	23	-	906	2177	**116**	-
cy-3-glc	11	1,5	26,3	82,3	**114**	854	48	15	185	1386	**78**	25
pt-3-gal	4,4	6,5	-	-	**88**	60	-	-	-	-	**-**	-
cy-3-ara	6,3	2,2	9,9	-	**125**	354	79	-	216	611	**137**	-
pt-3-glc	10	2,3	-	-	**77**	351	-	-	-	-	**-**	-
Průměr (%)	-	-	-	-	**107±30**	351	50	15	435	1391	**110±27**	25

Na základě navržených referenčních hodnot pro lesní a kanadské borůvky a předběžných navržených referenčních hodnot pro amelanchierovy borůvky (vyjma srovnání s kamčatskými borůvkami – jejich přítomnost se pomocí anthokyanového profilu nepotvrdila) byl odhadnut ovocný podíl u vzorků džemů (Obr. 1). Hodnoty byly srovnávány s deklarovaným podílem ovoce na etiketě a s odhadem ovocného podílu počítaného podle stávající metodiky na ústavu (ZM-55)[2]. U většiny měřených vzorků došlo ke snížení nejistoty měření. V případě vzorků u kterých nelze podle profilu anthokyanů jednoznačně určit zda se jedná o výrobek z lesních borůvek nebo směsi lesních a kanadských borůvek byl ještě odhadován ovocný podíl z průměrné navržené referenční hodnoty

lesních a kanadských borůvek. Z toho je patrné, že u vzorku 3 a 6 je hodnocení podle referenčních hodnot pro lesní borůvky odhad přesnější. Naopak u vzorku 5 se nejistota při využití průměrné referenční hodnoty lesních a kanadských borůvek výrazně snížila. Proto je vzorek 5 s největší pravděpodobností vyroben ze směsi lesních a kanadských borůvek nebo z kříženců lesních a kanadských borůvek.



Obr. 2 – Odhad ovocného podílu (%) borůvkových džemů podle referenčních hodnot z různých zdrojů a odpovídající nejistota odhadu znázorněná chybovou úsečkou

Závěr

Bylo zjištěno, že kamčatské a amelanchierovy borůvky se prokazatelně liší od lesních a kanadských borůvek ve většině stanovovaných markerů vyjma sacharosy, která je u všech vzorků borůvek nižší než 0,1 g/kg a floridzinu, který u žádného druhu borůvek nebyl detekován. Současně byla zjištěna i značná variabilita v rámci jednotlivých odrůd borůvek. Proto bylo obtížné určit průměrnou referenční hodnotu jednotlivých markerů.

V situaci, kdy není známo, z jakého druhu borůvek je výrobek vyráběn, dosahuje při hodnocení autenticity výrobků z borůvek odhadovaná celková nejistota odhadu ovocného podílu cca 30 %. Navržením referenčních hodnot však došlo k jeho zpřesnění cca na 15 %. Pomocí poměrného zastoupení anthokyanových barviv lze rozlišit lesní a kanadské borůvky. Pokud jsou kamčatské či amelanchierovy borůvky přidány do borůvkových výrobků lze je odhalit pomocí dalších markerů jako je obsah sorbitolu a draslíku. V budoucnu by bylo vhodné se zaměřit na rozšíření souboru vzorků kamčatských a amelanchierových borůvek.

Poděkování

Tento projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2016): A2_FPBT_2015_012, A1_FPBT_2016_002.

Literatura

1. NERADOVÁ E., AL-BALAA D., HAUBELTOVÁ A., KVASNIČKA F., ČÍŽKOVÁ H.: Borůvky: Charakterizace pro účely hodnocení autenticity výrobků z nich, *XLV. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin*, 2015, p. 71-74.
2. Nezávislá obalová laboratoř VŠCHT v Praze, Akreditovaná zkušební laboratoř č. 1316: Zkušební metoda ZM-55 STANOVENÍ OVOCNÉHO (ZELENINOVÉHO) PODÍLU VE VÝROBCÍCH DOPOČTEM Z NAMĚŘENÝCH HODNOT *(A.I.J.N. Code of practice for evaluation of fruit and vegetable juices. Kapitola 6.10. Reference guidlines, revize 2011)*, platnost od 14.5.2014.
3. ROP O., ŘEZNÍČEK V., MLČEK J., JURÍKOVÁ T., SOCHOR J., KIZEK R., HUMPOLÍČEK P., BALÍK J.: Nutritional values of new Czech cultivars of Saskatoon berries (*Amelanchier alnifolia* Nutt.), *Horticultural Science*, 2012, Vol. 39, no. 3, p. 123-128.
4. RUPASINGHE H. P. V.: A New Berry Crop With High Antioxidant Capacity. http://www.haskapnovascotia.com/docs/haskap_report_feb_2012.pdf (přístup leden 2016).

R 14

FRUITING BODIES OF CULTIVATED MUSHROOM *PLEUROTUS OSTREATUS*: COMPOSITION AND STRAIN VARIABILITY

Baeva E., Synytsya A., Čopíková J.
Department of Carbohydrates and Cereals, UCT Prague, Czech Republic

Edible mushrooms are recommended and desirable in human daily diet as healthy and nutritious foodstuffs. Fruiting bodies of mushrooms are low in calories, fats and essential fatty acids, but contain large amounts of proteins, polysaccharides, vitamins and minerals [1]. Mushrooms are also the source of many bioactive compounds. Commercial importance of fungal polysaccharides has attracted much attention in the field of functional foods. Partially, oyster mushrooms (genus Pleurotus) are interesting in this context because they can be easily cultivated due to high adaptability and productivity. These mushrooms are plentiful of dietary fibers. Besides proteins with almost all of the essential amino acids [2], fruiting bodies of oyster mushrooms also contain a lot of soluble and insoluble glucans [3]. Fungal polysaccharides, especially β-glucans, have positive effect on human organism. However, oyster mushrooms demonstrate high variability in the composition of fruiting bodies [4, 5], so sometimes it is difficult to evaluate their nutrition value.

Fruiting bodies of several strains of cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus* were characterised by organic elemental analysis, spectroscopic and separation methods to evaluate the contribution of proteins, phenolics and polysaccharides. The contents of dietary fibres, polysaccharides, proteins and phenolics were determined by the appropriate photometric methods. The total, α- and β-glucans were analysed using enzymatic set of Megazyme, Ireland. The monosaccharide composition of polysaccharides was determined by gas chromatography after total acidic hydrolysis. FTIR and FT Raman spectra of fruiting bodies were recorded and interpreted in terms of chemical composition and ratios between main structural components. Analytical data of all samples were compared by the use of descriptive and multivariate statistical methods. Obtained results confirmed significant differences in composition of fruiting bodies originated from different strains of *Pleurotus ostreatus.*

Financial support from specific university research (MSMT No. 20/2015) is acknowledged.

[1] Niksic M., Klaus A., Argyropoulos D.: Chapter 22 in Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods (ed. V. Prakash, O. Martin-Belloso, L. Keener, S. B. Astley, S. Braun, H. McMahon, H. Lelieveld), Elsevier, NL, 2016, pp. 421–439.
[2] Gunde-Cimerman N. (1999): Int. J. Med. Mushrooms 1 69–80.
[3] Manzi P., Pizzoferrato L. (2000): Food Chem. 68, 315–318.
[4] Synytsya A., Míčková K., Jablonský I., Sluková M., Čopíková J. (2009): Czech J. Food Sci. 26(6), 441–446.
[5] Synytsya An., Míčková K., Synytsya Al., Jablonský I., Spěváček J., Erban V., Kovářiková E., Čopíková J. (2009): Carbohydr. Polym. 76(4), 548–556.

R 15

MERCK MILLIPORE - PŘÍPRAVA LABORATORNÍ VODY S LÁSKOU .....

Ratkoš M., Cejpková Z.
Merck spol. s r.o., Praha

FIREMNÍ PREZENTACE

Příprava vody kvality pure a ultrapure.

R 16

APLIKACE FT-NIR SPEKTROSKOPIE V POTRAVINÁŘSTVÍ

Sedliaková M., Tenkl L.
Nicolet CZ, s.r.o., Praha

FIREMNÍ PREZENTACE

Blízká infračervená spektroskopie (NIRS) je analytická technika, která využívá zdroj emitujícího záření známé vlnové délky a umožňuje získat kompletní obraz organického složení analyzovaného materiálu. Principem metody je pohlcování (reflexe) různých vlnových délek dopadajícího záření, které závisí na chemickém složení analyzovaného vzorku.

Mezi hlavní přednosti NIR spektroskopie patří rychlost a velmi nízká cena jednoho stanovení oproti tradičním analýzám. Výhodou je i nedestruktivní měření vzorků, snadnost obsluhy, možnost měřit přes transparentní obaly a to vše bez použití chemikálií. Tím je tato technika stále častěji využívána i pro on-line analýzy.

Spektroskopie v NIR oblasti se v potravinářství a zemědělství uplatňuje již od 60. let minulého století. Další uplatnění nachází i ve farmacii, petrochemii, medicíně a při sledování životního prostředí.

R 17

SLEDOVÁNÍ BARVY TĚSTOVIN – VLIV MOUKY A RECEPTURY

Švec I., Hrušková M.

Ústav Chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha

Souhrn

Pro výrobek „sušené těstoviny“ v současnosti platná legislativa nedovoluje přídatné látky v receptuře. Jediná možná úpravy složení je přídavek různých, převážně rostlinných, materiálů s cílem zlepšení nutriční hodnoty a/nebo změny barvy produktu. Základní typy polohrubých mouk, polohrubá těstárenská a semolina, se významně liší jak v technologické kvalitě, tak v barvě; obsah karotenoidních barviv je v semolině vyšší, a proto se z ní vyrábějí bezvaječné druhy. Tento základní rozdíl byl v práci potvrzen pro polohrubé mouky čtyř výrobců proti vzorku semoliny. Další skupinou těstovin je kategorie bezlepkové, které mohou být založeny na kukuřičné mouce. V rámci laboratorního těstárenského pokusu byly připraveny soubory jednovaječných těstovin s nutričním benefitem, barevné a rovněž bezlepkové těstoviny. První skupina zahrnuje vzorky s 10% přídavkem 7 netradičních obilovin, nebo 20 % dalších netradičních plodin. Barevné těstoviny byly připraveny s 5% podílem 7 rostlinných pudrů (např. karotky, mořských řas) a sépiového inkoustu. Dvanáct bezlepkových variant vycházelo z kukuřičné mouky bez nebo s přídavkem karboxymethylcelulózy. Kvalita těstovin byla hodnocena senzoricky pětibodovým modelem pro sušenou formu (tvar, povrch, očkovitost, barva), vařená forma byla popsána objektivními znaky vaznost a bobtnavost. Barva sušených těstovin byla objektivně proměřena pomocí kolorimetru Minolta 2500d (5 opakování, měření technikou SCI – s rozptýlenými složkami). Modifikace základní receptury se projevila snížením tvarové stability z 5 až na 3 body. Vizuální změna barvy nastala přídavky pohanky nebo sóji (hodnota 3); barva některých bezlepkových variant byla hodnocena nejnižším stupněm 1. Žlutý odstín těstovin byl podpořen přídavkem kukuřičné nebo lupinové mouky, kdy došlo k nárůstu hodnot bílé (L^*) a žluté (b^*). Vaznost a bobtnavost se průkazně zvýšila vlivem recepturních složek s vyšším obsahem vlákniny, jako jsou např. pšeničná celozrnná mouka nebo ječné otruby.

Těstoviny jsou nedílnou součástí evropského spotřebního koše, a proto v rámci konkurenceschopnosti mezi výrobci je nutno inovovat nabízený sortiment. Na rozdíl od ostatních cereálních výrobků je podle legislativy EU možné těstoviny obohacovat látkami pouze z přirozených zdrojů. Senzorický vjem barvy lze proto ovlivnit výběrem mouky jako základní suroviny a použitou recepturou. Základní žlutý odstín těstovin je odvozen od semolinových bezvaječných těstovin, světlejší barva výrobků z polohrubé těstárenské mouky je korigována přídavky vajec a případně kurkumy. Samostatnou skupinu tvoří bezlepkové těstoviny, pro které jako základní surovinu lze s výhodou použít žlutou kukuřičnou mouku.

Paleta rostlinných produktů, schopných modifikovat základní barvu těstovin, zahrnuje jak celozrnné cereální mouky (oves, žito, špalda, kamut, pšenice s purpurovým zrnem) a směsi s jinými (např. kukuřice-rýže, špalda-pohanka) včetně semolinovo-luštěninových těstovin (Hamr 2007). Podle Hruškové *et al*. (2007) lze tyto netradiční plodiny rozdělit do čtyř skupin – archaické pšenice, staré kultivary pšenice neevropského původu, odrůdy ječmene nebo tritordea a ostatní (např. pohanka, proso, lupina). V současné době existuje na trhu nabídka rostlinných pudrů, např. z karotky, mořských řas (wakame) nebo hřibů, jejichž přídavek do receptury může způsobit také odlišný chuťový vjem. Uvedené druhy však nepatří do základního sortimentu a jsou určeny spíše pro speciální příležitosti. I přes nízké přídavky jsou tyto suroviny zdrojem bílkovin, vlákniny, vitamínů a minerálních látek.

Cílem práce bylo porovnat subjektivní a objektivní hodnocení barvy sušených těstovin, v laboratorním měřítku připravených s přídavky mouk z netradičních plodin a rostlinných pudrů, stejně jako s podílem celozrnné pšeničné a ječné mouky; v případě bezlepkové varianty hodnocení

zahrnuje rovněž přídavky vlivu netradičních plodin, vždy ve srovnání se standardem. Kvalita vyrobených kolínek byla posouzena pomocí obvyklých parametrů po uvaření – vaznost a bobtnavost.

Materiál a metody

Těstoviny byly připraveny podle standardizovaného laboratorního těstárenského pokusu VŠCHT (Hrušková a Vítová, 2007) – kromě bezlepkových se jednalo o jednovaječnou variantu. Měření barvy rozemletých a prosátých těstovin bylo provedeno pomocí spektrofotometru Minolta CM-2006d a programu Spectra Magic CM-S100w (Konica Minolta, Japonsko; Švec *et al*. 2008).

Pro porovnání vlivu vstupní suroviny na barvu sušených těstovin byly připraveny bezvaječné těstoviny z polohrubé těstárenské mouky čtyř výrobců (M1 – maloobchod Delvita, M2 - mlýn Delta, M3 – mlýn Perten Svijany, M4 – mlýn Mladá Boleslav) a semoliny (M5) z mlýna Březí. První soubor těstovin s netradičními plodinami zahrnoval 10% přídavky mouk ze špaldy, trinaldiny, tritordea, pšenice s purpurovým zrnem (archaické pšenice) a ze tří jarních variet ječmene (odrůda Merlin, kultivary A a B). Druhá skupina obsahuje vzorky těstovin z polohrubé těstárenské mouky nebo semoliny M5 s 20% podílem hladkých mouk z tritordea, ječmene Merlin, loupaného prosa (jáhel), kukuřice, pohanky, sóji a lupiny. Barevné těstoviny byly připraveny s využitím 5 % pudrů z karotky, borůvek, bazalky, karobu, jeřabin), mořských řas wakame a sušených hřibů. Názvy netradičních plodin a rostlinných pudrů byly pro jednoduchost zkráceny na tři počáteční písmena. V sadě těstovin s celozrnnými moukami je možno porovnat vliv celozrnné pšeničné a ječné mouky (PCM, JCM) a také otrub z obou obilovin (PO, JO) v přídavcích 10-90 %, respektive 10 a 30 % na bázi polohrubé mouky.

Základní verze bezlepkových těstovin byly vyrobeny z kukuřičné mouky (KM) s 5 a 10 % bramborového škrobu (BŠ); pro fortifikaci 20 % prosné, quinoa, amarantové, sójové a rýžové a pohankové mouky byla směs KM+BŠ 95:5 doplněna karboxymethylcelulózou (CMC) v množství s 1 % (označení třísložkové směsi „bezlepková směs laboratorní, BSL). Základ těstoviny bez CMC tvořila rovněž KM, kdy míra substituce komerční bezlepkovou obilninovou směsí byla zvolena na úrovni 10, 15, 30 a 50 %. Tato obilninová bezlepková směs (BSK, výrobce Mantler s.r.o.) kombinuje KM, sójovou mouku a další suroviny.

S využitím programu Statistica 7.1 (Statsoft Inc., Tulsa, USA) a byl pomocí Tukeyova HSD testu v jednotlivých souborech porovnán dopad faktorů typ základní mouky, typ netradiční plodiny a výše přídavku této suroviny.

Výsledky a diskuse

Barva vlastní suroviny při testování recepturního přídavku vajec odpovídala druhu semleté pšenice. Pro bezvaječné těstoviny z M1–M4 z pšenice obecné byla ve srovnání se semolinou M5 z pšenice durum zjištěna statisticky intenzivnější bílá než žlutá (Tab. 1; Fratianni *et al*., 2005). Semolinové těstoviny i přes průkazně nižší vaznost prokázaly mírně vyšší bobtnavost (Tab. 1).

Tab. 1 Charakteristiky bezvaječných těstovin v sušené a uvařené formě

Vzorek těstovin		Barva sušených těstovin			Vaznost (%)	Bobtnavost (–)
Mouka	Zkratka	*L**	*a**	*b**		
Polohrubá těstárenská	M1	93.63c	0.73b	8.06a	228.0b	1.69a
	M2	93.69c	0.78b	11.44b	271.6c	1.79a
	M3	94.25d	0.63a	12.73c	220.4b	1.91a
	M4	92.60b	1.06c	14.97d	221.6b	1.75a
Semolina	M5	89.61a	1.42d	22.19e	192.0a	1.83a

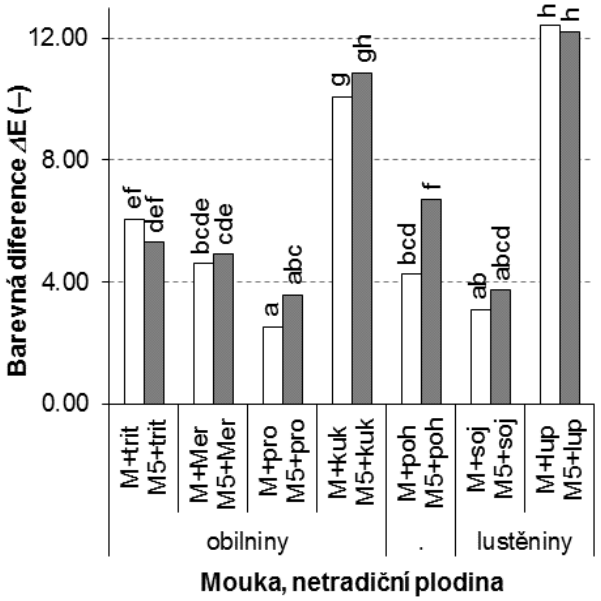
Polohrubé mouky: M1 - maloobchod (Delvita), M2 - mlýn Delta,
M3 - mlýn Perten Svijany, M4 – mlýn Mladá Boleslav.
Semolina: M5 - mlýn Březí.

Senzorické hodnocení sušených těstovin z polohrubé těstárenské mouky s 10% přídavkem netradičních obilovin dokládá malé rozdíly způsobené těmito surovinami – tvarová stabilita byla ve všech případech uspokojující a také jejich povrch byl hladký bez trhlinek. Očkovitost vyjadřuje podíl tmavých teček-stipů v povrchu vzorku a barva pak rovnoměrnost až skvrnitost zbarvení; v těchto parametrech byly zjištěny největší odlišnosti od standardu (Tab. 2). Odstín fortifikovaných těstovin se od standardu příliš neodlišoval, nejméně sytá žlutá byla stanovena pro těstoviny s jarním ječmenem A (*b** 18,96 proti 21,03). Patrně kvůli výši přídavku se významněji neprojevila změna v parametru *a** pro přídavek pšenice s purpurovým zrnem. Pro sušenky z celozrnné mouky z této barevné pšenice Pasqualone *et al.* (2015) zaznamenali cca dvojnásobnou intenzitu bar-vy než pro variantu z celozrnné mouky z běžné pšenice. Alternativní suroviny významně ovlivnily vaznost těstovin (204.4 až 296.0 % proti 228,0 %; (data neuvedena), ovšem nelze odlišit vliv archaických pšenic a ječmene obsahujícího hydrofilní β-glukany. Naproti tomu se bobtnavost prakticky nezměnila (1,70-1,80 vs. 1,69).

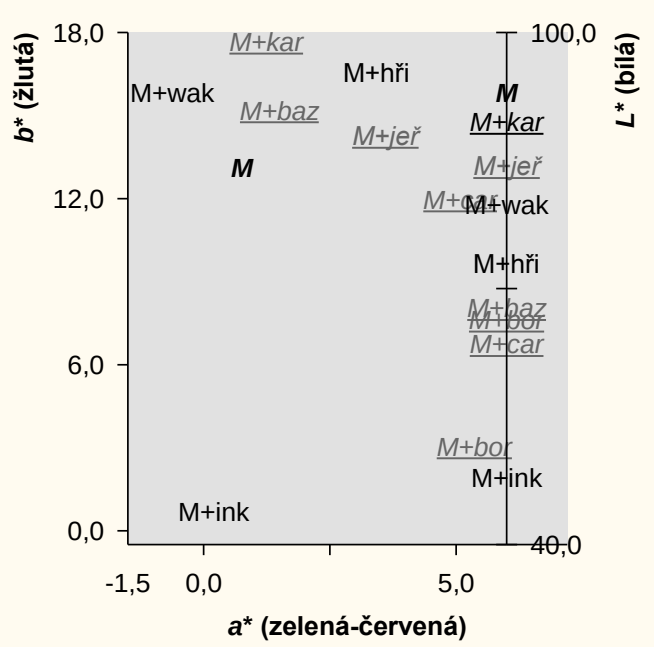
Vlastnosti sušených těstovin na bázi M nebo M5 byly nejvýrazněji odlišné v očkovitosti, vizuálně posouzená barva odhalila nerovnoměrné vybarvení pro vzorky s pohankou, sójou nebo lupinou jak pro běžné, tak semolinové těstoviny. Vypočtené barevné diference *Δ*E jsou spíše statisticky neprůkazné mezi jednovaječnými pšeničnými a semolinovými těstovinami (Obr. 1, s výjimkou přídavku pohanky); s ohledem na obecně uznávanou hodnotu 2,3 jako minimální postřehnutelný rozdíl („just noticeable difference“) lze bezpečně od ostatních odlišit varianty s kukuřičnou a lupinovou moukou, případně s moukou z tritordea proti prosu. Vaznost o cca jednu polovinu zvýšil podíl tritordea v receptuře, opačný efekt byl pozorován pro sójovou mouku kvůli vysokému podílu tuku.

Přídavky rostlinných pudrů se podle předpokladu projevily nejvýznamnější změnou odstínu těstovin, limitní meze ve světlosti a žlutosti přestavují přídavky karotky a sepiového inkoustu (*L** 87,82 proti 46,08, resp. *b** 17,14 proti 0,14), v červeném odstínu pak borůvek a řas wakame (*a** 5,36 proti -0,62 – nádech zelené barvy; Obr. 2). Gull *et al.* (2015) pro semolinové těstoviny s 10 % mrkvové drti stanovili pokles světlosti *L** o 16 %, sedminásobné zvýšení intenzity červené a zesílení žluté o cca 60 %. Ve shodě s předchozími soubory, modifikace receptury více ovlivnila vaznost než bobtnavost těstovin.

Náhrada polohrubé mouky celozrnnou nebo otrubami se projevila zejména vadami povrchu a v očkovi-tosti v souladu s mírou substituce – zejména ječné otruby snížily hodnocení na minimální



Obr. 1 Porovnání barevné změny 20% přídavky netradičních plodin k polohrubé těstárenské mouce (M) a semolině (M5). Rozdíly průkazné s P = 95 %.



Obr. 2 CIE Lab barva sušených těstovin s 5% přídavkem rostlinných pudrů a sépiového inkoustu.

Tab. 2 Charakteristiky sušených těstovin s 10% přídavkem cereálních mouk

Vzorek	Netradiční plodina	Tvar	Povrch	Očkovitost	Barva
M	–	5	5	4	4
M + netrad. pšenice	špalda	5	4	4	4
	trinaldina	5	5	4	4
	tritordeum	5	5	4	5
	purpurová pšenice	4	5	3	5
M + jarní ječmen	Merlin	5	5	4	4
	kultivar A	5	5	3	4
	kultivar B	5	5	4	5

hodnotu 1. Senzorické hodnocení barvy se zhoršilo na stupeň 3 pro 70% a 90% podíl PCM (data neuvedena). Spotřebitelská kvalita těchto těstovin se s rostoucím podílem celozrnných mouk spíše snižovala, vaznost klesla z 139.6 % až na 105.4 %. Piwińska *et al.* (2015) přitom pro 4-20% přídavky ovesné vlákniny do semolinových těstovin pozorovali opačný trend.

Bezlepkové těstoviny podle základní receptury (95%/90% KM + 5%/10% BŠ) vykazovaly horší tvarovou stálost, značnou očkovitost a nestandardní bar- vu (hodnocení 3, 3 a 1). Barva byla výrazně žlutá díky kukuřičnému základu (*b** 31,76; 26,24). Přídavek 1 % CMC a 20 % quinoi, amarantu nebo sóji vedly ke zpevnění a vyrovnání povrchu kolínek (body 4 a 5), očkovitost a barva se zlepšily na stupně 3 až 4. Těstoviny z KM a s 10 nebo 50 % BSK dosáhly protichůdného senzorického hodnocení – původně uspokojivý tvar se zhoršoval (ze 4 na 1 bod), zatímco barva naopak (Tab. 3). Přídavky všech alternativních surovin snížily *b** až o třetinu, světlost průkazně rostla jen v případě dotace BSK. Netradiční plodiny vaznost bezlepkového druhu zvyšovaly z 134,4 % v průměru na 157,1 %, uspokojivá bobtnavost (2,89) příliš nekolísala.

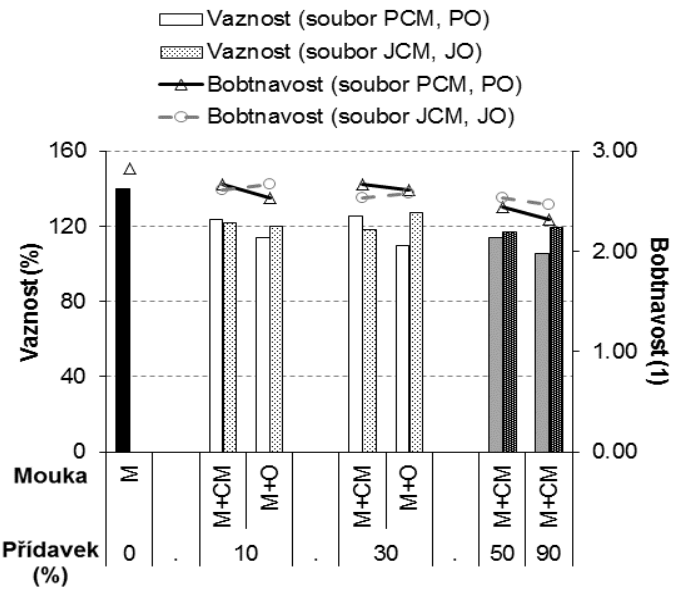
Závěr

Těstoviny patří do spotřebního koše v celosvě-tovém měřítku a jejich podíl ve výživě není zanedbatelný. Fortifikace těstárenských produktů zdraví prospěšnými látkami z netradičních plodin přináší také marketingově zajímavou možnost rozšíření stávajícího sortimentu. I v nízkých recepturních podílech mají netradiční plodiny potenciál změnit žlutou barvu těstovin, vnímanou jako tradiční a základní, na téměř všechny odstíny barevného spektra. Přídavky celozrnných mouk způsobují ztmavnutí do hněda, výrobek je pak spotřebiteli vnímán jako zdravější. V případě bezlepkových kukuřičných těstovin se jako nezbytné jeví použití CMC a korekce nažloutlého odstínu přídavky netradičních plodin. Míra substituce základní pšeničné a kukuřičné polohrubé mouky nebo semoliny by měla zohlednit jak přijatelnou spotřebitelskou kvalitu uvařených těstovin, tak žádoucí nutriční přínos.

Tab. 3 Charakteristiky sušených bezlepkových těstovin

Vzorek	Netradiční plodina	Tvar	Povrch	Očkovitost	Barva
KM + BŠ	5	4	3	3	1
	10	3	4	3	1
BSL+ 20 %	proso	3	3	2	1
	quinoa	4	5	4	4
	amarant	5	5	4	3
	sója	4	3	3	4
	rýže	4	3	4	1
	pohanka	3	3	3	1
KM + BSK	10	4	3	3	1
	15	4	4	3	1
	30	3	3	4	1
	50	2	3	4	4

KM -kukuřičná mouka, BŠ - bramborový škrob, CMC - karboxymethylcelulóza.
BSL - bezlepková směs laboratorní (KM + 5 % BŠ + 1 % CMC), BSK - bezlepková směs komerční (obilninová).



Obr. 3 Vliv celozrnné mouky (CM) pšeničné a ječné (PCM, JCM) a otrub (PO, JO) a výše jejich přídavku na charakteristiky uvařených pšeničných těstovin. M – pšeničná mouka polohrubá těstárenská, resp. těstoviny.

Poděkování

Tato práce byla vypracována v rámci projektu NAZV QI 111 B053.

Literatura

Fratianni A., Irano M., Pamfilu G., et al. (2005): Estimation of color of durum wheat. Comparison of WSB, HPLC, and reflectance colorimeter measurements. Journal of Agriculture and Food Chemistry 53: 2373-2378.

Gull A., Prasad K., Kumar P. (2015): Effect of millet flours and carrot pomace on cooking qualities, color and texture of developed pasta. LWT – Food Science and Technology 63: 470-474.

Hamr K. (2007): Těstoviny dnes a zítra. Ročenka pekaře a cukráře 2007: 100-108.

Hrušková M., Vítová M. (2007): Laboratorní těstárenský pokus. Mlynářské noviny XVIII (2): 7-9.

Hrušková M., Vítová M., Švec I. (2007): Těstoviny s přídavkem netradičních plodin. Mlynářské noviny XVIII (4): 7-11.

Pasqualone A., Bianco A.M., Paradiso V.M., et al. (2015): Production and characterization of functional biscuits obtained from purple wheat. Food Chemistry 180: 64–70.

Piwińska M., Wyrwisz J., Kurek M., et al. (2015): Hydration and physical properties of vacuum-dried durum wheat semolina pasta with high-fiber oat powder. LWT - Food Science and Technology 63: 647-653.

Švec I., Hrušková M., Vítová M., et al. (2008): Colour evaluation of different pasta samples. Czech Journal of Food Science 26(6): 421–427.

Ugarčić-Hardi Ž., Jukič M., Koceva-Komlenić D., et al. (2007): Quality parameters of noodles made with various supplements. Czech Journal of Food Science 25(3): 151-157.

R 18

TRVANLIVÉ PEČIVO – NERADIČNÍ RECEPTURY A NUTRIČNÍ PŘÍNOS SUŠENEK

Hrušková M., Švec I.
Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha

Abstrakt
Cílem práce bylo hodnocení vypichovaných sušenek na bázi pšeničné a pšenično-ječné mouky s přídavky netradičních komponent - mouky z ostatních obilovin, konopí, kaštanu, nopálu, tef, chia a lnu. Hodnocení sušenek bylo provedeno podle interního modelu (měrný objem, tvar - spread hodnota a senzorický profil). Nutriční přínos je vyjádřen obsahem vlákniny (TDF) stanovený podle platné AOAC. Recepturní složení ovlivnilo spotřebitelské i nutriční znaky sušenek diferencovaně podle druhu a množství netradiční složky. Průkazný vliv na objem byl pro prokázán přídavky nopálové mouky a lněné vlákniny. Měrný objem snižoval přídavek ovesné celozrnné mouky, zatímco podle obsahu vlákniny byl tento druh hodnocen jako nutričně přínosný. V kompozitní směsi s 50 % žitné celozrnné mouky byl zjištěn nárůst IDF z 2,3 na 7,5 %. Přídavek lněné vlákniny v množství nad 10 % se projevil zvýšením měrného objemu a zlepšením senzorického profilu. Kombinace netradičních plodin s ječmenem lze užít současně k maskování typické ječné příchuti. Chia semena, která poskytují pšenično-ječným sušenkám příjemnou příchuť, se projevují zvýšením obsahu TDF o téměř 2 %. Tvar sušenek průkazně ovlivnily vyšší přídavky mouky ze semen tef a konopí.
Klíčová slova: sušenky, jakostní a senzorický profil, vláknina, ječmen, chia, tef, konopí, len

Úvod

Trvanlivé pečivo tvoří v roční spotřebě cereálních výrobků 5-10 % a konzumace vykazuje nárůst zejména vlivem změn sortimentu a dovozu. Podle technologie výroby je děleno do pěti skupin, kde sortiment sušenek a oplatek činí cca polovinu vyrobeného množství. Obě tyto komodity jsou označovány jako sladké pochutiny s trvanlivostí až 1 rok.

Sušenky jsou spíše evropským cereálním výrobkem a na ostatních kontinentech mají adekvátní ekvivalent např. jako sladké crackery v USA. Čs. nabízený sortiment je široký, protože jsou podle způsobu tvarování vyráběny jako vypichované, lisované, stříkané nebo řezané. Tržní druhy také rozšiřuje finální úprava výrobků, které mohou být potahované, máčené nebo slepované různými náplněmi.

Vypichované sušenky se označují podle způsobu tvarování, protože jsou vyráběny pomocí matrice z kalibrované lemy těsta. Recepturní složení určuje druh výrobku a základ tvoří pšeničná mouka hladká pečivárenská. Mezi nezastupitelné složky patří cukry, tuky, různé přídatné látky a komponenty určené k aromatizaci. Odlišností od ostatních cereálních výrobků je chemické kypření a nízký obsah vody (nejvýše 10 %; Dostálová *et al.*, 2014). Příprava těsta je zpravidla diskontinuální (dížová), ale následné operace (tvarování, pečení, chlazení, finální úprava a balení) probíhají na kontinuálních linkách. Pro výrobu vypichovaných sušenek jsou technologicky významné vlastnosti pšeničné mouky, označované jako pekařsky slabá (Miller a Hoseney, 1997). Požaduje se nižší obsah mokrého lepku s dostatečnou tažností a menší pružností. Protože není k dispozici vhodný sortiment odrůd tzv. pečivárenské pšenice, která by splňovala požadované parametry hladké mouky pro sušenky, upravují se reologické charakteristiky těsta přídatnými chemickými látkami nebo lze využít mouky z netradičních plodin, např. ječmene. Nutriční hodnotu ječné mouky tvoří neškrobové polysacharidy, zastoupené zejména beta - glukany. Recepturní přídavek je spojen s ovlivněním senzorického vjemu cereálních výrobků. V případě sušenek je však typicky nahořklá příchuť ječmene maskovaná vyšším množstvím cukru v receptuře (Gupta *et al.*, 2011). Pro zvýšení obsahu vlákniny vypichovaných sušenek lze využít netradiční semena v mletém stavu.

Tef je tropická cereálie z Etiopie a z hlediska obsahu minerálních látek je přínosný vysoký obsah železa, vápníku a hořčíku (Hager *et al*., 2012).
Chia pochází z Mexika a zrno obsahuje 16 - 26 % bílkovin s příznivým aminokyselinovým složením. Výživově je zajímavý i vysoký obsah tuku (30 - 34 %) s obsahem nenasycených mastných kyselin (Reyes-Caudillo *et al*., 2008).
Konopné produkty ze semen konopí setého obsahují 20 - 25 % bílkovin, 25 - 35% tuku a 10 - 15 % nerozpustné vlákniny. Nutriční přínos je daný také složením oleje (Dimic *et al*., 2009).
Nopálová mouka se vyrábí ze stonkových částí opuncie *Opuntia ficus-indica f. inermis* (beztrnná) a obsahuje 52 – 53 % sacharidů, 20 – 22 % minerálních látek, 15 – 16 % bílkovin nelepkového složení a 9,5 % vlákniny v závislosti na podmínkách pěstování (Stintzing a Carle, 2005). Z nutričního hlediska je ceněn obsah vlákniny a minerální látky (K, Mg, Ca).
Kaštanová mouka se vyrábí z jedlých kaštanů – plodů kaštanovníku setého (*Castanea sativa* Mil.) a obsahuje cca 46 % škrobu, 15 % vlákniny, 7 % bílkovin nelepkového složení, 4 % tuků a 2 % minerálních látek. Z nutričního hlediska je hodnotné zastoupení mikroprvků Fe, Cu a Zn (Borges *et al*, 2008).
Lněná vláknina je komerční potravinářský výrobek získaný po lisování nebo extrakci oleje ze lnu setého. Uvádí se průměrný obsah 45 % vlákniny, 32 % bílkovin, 16 % tuku a 2,4 % sacharidů (Fitzpatric, 2008).
Tradiční sortiment vypichovaných sušenek patří mezi výrobky, konzumované jako sladké pochutiny a není obvykle spojován s požadavkem na významný nutriční přínos. Z hlediska spotřebitelské kvality na sušenky kladeny jiné nároky než na pšeničné pečivo. Rozhodující je křehkost, rozplývavost a příjemný chuťový vjem podle deklarovaného druhu. Objektivně se zjišťuje měrný objem a tvar, vyjádřený jako hodnota spread.
Cílem práce je hodnocení sušenek na bázi pšeničné a pšenično-ječné mouky s přídavky netradičních surovin z přírodních zdrojů na bázi obilovin a jiných botanických forem domácího i zahraničního původu. Netradiční plodiny byly ověřeny jako vhodná recepturní složka do cereálních výrobků pro zvýšení obsahu vlákniny. Výstupy aplikovaného výzkumu jsou zde popsány spotřebitelskými znaky sušenek (měrný objem a spread) a obsahem celkové vlákniny (TDF).

Materiál a metody

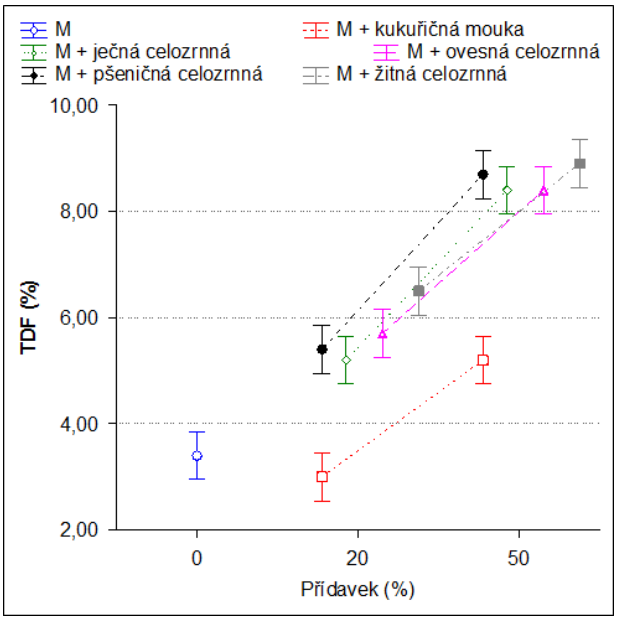
Interní laboratorní postup pro výrobu vypichovaných sušenek VŠCHT Praha byl modifikován přídavky různých přírodních produktů v množství, které zaručuje zvýšený obsah vlákniny a přijatelný senzorický profil výrobků z modelových pokusů.
Byly hodnoceny vypichované sušenky na bázi pšeničné (M) a pšeničné - ječné (MJ30) mouky s přídavky:

- celozrnné mouky z kukuřice, pšenice, žita, ječmene a ovsa
- konopné mouky (Ko)
- chia světlé a tmavé (CH1, CH2), tef světlé a tmavé (T1, T2)
- nopál (No), kaštan (Ka)
- lněná vláknina (LV).

Výše přídavků se pohybovala v rozsahu 2,5 – 50 % podle typu přidaného produktu.
Měrný objem je stanoven z objemu a hmotnosti 10 min po upečení. Hodnota spread pro popis tvaru sušenek je vyjádřena poměrem průměru a výšky. Senzorické hodnocení vychází z intenzitního šestiparametrového modelu VŠCHT. Obsah vlákniny (TDF) ve vzorcích sušenek byl stanoven podle AOAC 985.29.

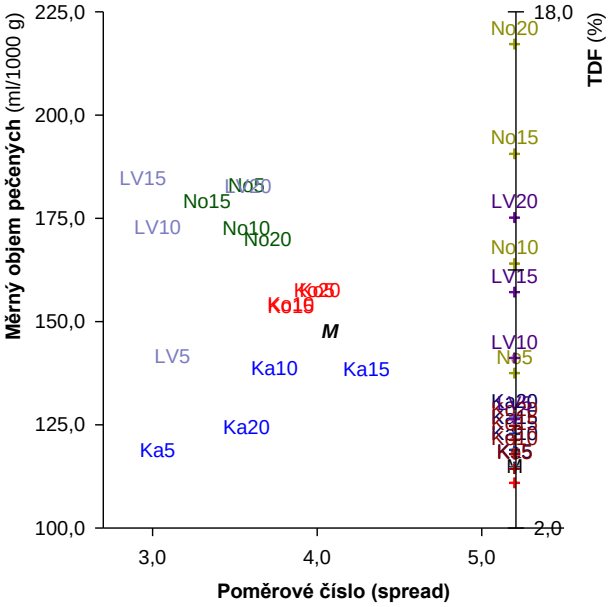
Výsledky a diskuse

Měrný objem sušenek s přídavky celozrnných mouk z tradičních obilovin do 10 % byl zjištěn vyšší ve srovnání s pšeničnými. Nejvyšší hodnota byla naměřena pro vzorky s 5 % kukuřičné mouky (nárůst o téměř 10 %). Přídavkem celozrnné ječné mouky se měrný objem snižoval pro všechna recepturní složení. Stejný negativní vliv byl prokázán i pro kompozitní směsi s ovesnou a žitnou celozrnnou. Tvar sušenek se přídavky celozrnných mouk nad 10 % průkazně neměnil bez ohledu na druh. Obsah TDF v kompozitních směsích pro sušenky se zvyšoval v závislosti na přidaném množství a nejvyšší hodnota byla zjištěna vlivem žitné celozrnné mouky (Obr. 1).



Obr. 1. Obsah TDF vlákniny v kompozitních směsích s celozrnnými moukami

Sušenky z pšeničné mouky obohacené přídavky konopné, kaštanové, nopálové mouky a lněné vlákniny se průkazně lišily měrným objemem a tvarem od pšeničných. Při recepturních variantách je nutno podle statistického zpracování výsledků respektovat vztahy obou znaků (Švec a Hrušková, 2015). Z Obr. 2 je zřejmý vliv výše přídavku nopálové mouky a lněné vlákniny na tvar i měrný objem. Pro kaštanovou mouku byla zjištěna průkaznější změna tvaru (spread), zatímco měrný objem byl ovlivněn méně. V recepturním souboru patřil se sušenkami s konopnou moukou k nejnižším ze sledovaných variant. Z hlediska obsahu TDF vlákniny je nejlepším donorem nopálová mouka a kompozitní směs s 10 % přídavkem má obsah trojnásobný proti pšeničné mouce. V případě přídavku lněné vlákniny bylo při stejném obohacení zjištěno množství dvojnásobné. Pro testované recepturní složení sušenek lze podle senzorického profilu doporučit obohacení netradičními produkty do 10 %.



Obr. 2. Měrný objem a spread pro sušenky obohacené netradičními moukami

Měrný objem sušenek se vlivem ječné mouky průkazně neměnil, pozitivní efekt byl pozorován spíše pro případy vyšších dávek chia a pro oba druhy tef mouky. Tvar sušenek (spread) z pšenično-ječných směsí MJ30 byl lepší než pro pšeničný standard – zvýšení z hodnoty 3,13 na 4,0 resp. 5,0. Měrné objemy výrobků s podílem ječné, chia a tef mouky se mírně zvýšily v závislosti na přidaném množství netradičních složky. V práci Alaunyte *et al.* (2012) zjistili měrné objemy pečiva obsahujícího 10 nebo 20 % tef mouky srovnatelné s pšeničným standardem. Senzorický profil výrobků s podílem ječné, chia a tef mouky byl vyhodnocen jako přijatelný v souladu s výsledky Sharma a Gujral (2014).

.Tab. 1 Znaky sušenek s obsahem ječné, chia a tef mouky

Mouka, přídavek	Měrný objem (ml/100 g)		Tvar d/v (*spread ratio*) (-)		Celková přijatelnost			
					přijatelný	příjemný	nepřijatelný	
M	160	ab	3,13	a				c
MJ30	156	a	4,00	a				c
MJ30 + CH1-05	152	a	4,17	a				c
+ CH1-10	180	ab	4,76	a				a
+ CH2-05	162	ab	4,17	a				c
+ CH2-10	175	ab	4,35	a				a
MJ30 + T1-05	169	ab	5,00	a				c
+ T1-10	160	ab	4,17	a				c
+ T2-05	208	b	4,00	a				c
+ T2-10	186	ab	4,35	a				c

M - pšeničná mouka, MJ30 - směs pšeničné a ječné mouky 70:30 (w/w).
CH1, CH2 - celozrnná mouka z bílých, resp. tmavých semen;
T1, T2 - bílá a hnědá tef mouka. Přídavky chia a tef 5 a 10 %.

Závěr

Vypichované sušenky tvoří v sortimentu trvanlivého pečiva rostoucí segment spotřeby těchto sladkých pochutin. Analogicky lisovaným druhům, kam se řadí výrobky typu BEBE, se dá očekávat zájem spotřebitelů o jejich nutričně hodnotnější složení. Při zachování senzorického profilu lze v receptuře využít netradiční komponenty. Zatímco obvyklé přídavky celozrnných tradičních mlýnských výrobků nachází uplatnění do speciálních druhů chleba a pečiva, pro vypichované sušenky lze pro současné zvýšení atraktivity využít produkty z netradičních semen. Pro uvedené účely lze vedle chia, tef, konopí a nopálu použít lněnou vlákninu.

Literatura

Alaunyte I., Stojceska, V., Plunkett A., Ainsworth P., Derbyshire E. (2012): Improving the quality of nutrient-rich teff (*Eragrostis tef*) breads by combination of enzymes in straight dough and sourdough breadmaking. Journal of Cereal Science, *53*(2), 192-197.

Borges O., Goncalves B., Soeiro de Carvalho J.L., Correia P., Silva A.P. (2008): Nutritional quality of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars from Portugal, Food Chemistry, 106, 976-984.

Cudillio E., Tecante A.,Valdivia-Lopez M.A. (2008): Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. Food Chemistry, *107*: 656–663.

Dimic. Z., Romanic R., Vujasinovic V. (2009): Essential fatty acids, nutritive value and oxidative stability of cold pressed hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil from different varieties. Acta Alimentaria, *38*(2): 229–236.

Dostálová J., Kadlec P. (2014): Potravinářské zbožíznalství, KEY Publishing s.r.o. Ostrava, s. 252-255.

Fitzpatric C.K. (2008): Stabilizing Flax for Food Application. Cereal food World, 53(5), 280-282.

Gupta M., Bawa A.S., Abu-Ghannam N. (2011): Effect of barley and freeze-thaw cycles on textural, nutritional and functional properties of cookies. Food and Bioproducts Proccesing 89, 520-527.

Hager A.S., Wolter A., Jacob F., Zannini E., Arendt E.K. (2012): Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. Journal of Cereal Science, 56: 239-247.

Miller R.A., Hoseney R.C. (1997): Factors in hard wheat flour responsible for reduced cookie spread. Cereal Chemistry 74(3), 330-336.
Sharma P., Gujral H.S. (2014): Cookie making behavior of wheat–barley flour blends and effects on antioxidant properties. LWT – Food Science and Technology 55, 301-307.
Švec I., Hrušková M. (2015): Evaluation of composite flour with chia and teff for cookies produce. Cereal Technology. 2: 74-87.

Dedikace
Práce byla vypracována v rámci grantu OI 152 027 NAZV ČR.

Kontaktní adresa:
doc. Ing. Marie Hrušková, CSc., VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice,
Marie.Hruskova@vscht.cz

R 19

OBSAH SOLI V PEKAŘSKÝCH VÝROBCÍCH, ŠUNKÁCH, SÝRECH A V OBLOŽENÉM PEČIVU

Dostálová J.[1], Brát J.[2]
1-Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6
2-Vím, co jím a piju o.p.s., Drtinova 10, 150 00 Praha 5

Souhrn

Přestože jsou již několik desítek let vydávána doporučení ke snížení příjmu kuchyňské soli (NaCl), je její obsah ve stravě obyvatel vyspělých průmyslových zemí stále velmi vysoký. V České republice překračuje téměř trojnásobně (až 17 g/den) doporučovaný příjem 5 - 6 g za den. U starších lidí, kde je častější výskyt hypertenze a dalších onemocnění, se doporučuje příjem soli pod 5 g/den. Nejvíce soli přijímáme prostřednictvím potravinářských výrobků (většina studií prezentuje, že tvoří 75 % denního příjmu). I když pekařské výrobky, šunka a většina sýrů neobsahují nejvíce soli, jsou jejím velmi výrazným přispěvatelem k velkému konzumovanému množství.
Bylo analyzováno 20 pekařských výrobků a 20 šunek. Obsah soli v pekařských výrobcích se pohyboval v rozmezí 0,71 – 1,83 g/100 g, u šunek od 1,51 do 4,70 g/100 g.
Výpočtem bylo zjištěno množství soli v obloženém pečivu z analyzovaných potravin a ze sýrů, u kterých byl použit obsah soli uváděný v databázích.

Úvod

Přestože jsou již několik desítek let vydávána doporučení ke snížení příjmu kuchyňské soli (NaCl), je její obsah ve stravě obyvatel vyspělých průmyslových zemí stále velmi vysoký. V České republice překračuje téměř trojnásobně (až 17 g/den) příjem doporučený Společností pro výživu (5 - 6 g za den), u starších lidí, kde je častější výskyt hypertenze a dalších onemocnění pod 5 g/den.
Nejvíce soli přijímáme prostřednictvím potravinářských výrobků (většina studií prezentuje, že tvoří 75 - 80 % denního příjmu). Významnými zdroji soli jsou masné výrobky, pekařské výrobky, zvláště sypané solí a většina sýrů, i když nemají nejvyšší obsah soli, jsou však konzumovány ve velkém množství. Dalšími významnými zdroji jsou hotové pokrmy, dehydratované polévky, sterilovaná zelenina, marinády a dochucovadla, sójová (až 18%) a další omáčky, hotové omáčky na těstoviny, bramborové chipsy, slané tyčinky, solené ořechy a některé minerální vody.
Příklady výrobků s vysokým obsahem soli:

- Některé rybí výrobky až 14%
- Bílé sýry např. sýry typu balkán, jadel až 6%
- Olomoucké tvarůžky 5 % (až 6,2 %)
- Modré sýry (plísňové) – 4 - 5%
- Hermelín – 2,8 %
- Masné výrobky – doporučeno přidávat do 2,5% soli, obvykle mají do 3%, ale i více např. uzená masa cca 4%, Salami minis Walnuss 5,8% (dětská šunka mívá méně např. 1,7%)
- Pekařské výrobky sypané solí.

V experimentální části budou uvedeny výsledky testování pekařských výrobků (podílejí se na příjmu soli z 20 – 30 %), které Iniciativa **Vím, co jím a piju** provedla koncem roku 2014 pod záštitou **Ministerstva zdravotnictví ČR** (v rámci Národní strategie Zdraví 2020) a testování šunek, které bylo součástí kampaně **„Solte méně!“** vycházející ze světové akce **Salt Awareness Week**. Akce je podporována Ministerstvem zdravotnictví ČR o zvyšování povědomí o vysoké spotřebě soli a zapojila se do ní Iniciativa Vím, co jím a piju, která nechala otestovat šunky na obsah soli, protože šunky jsou v očích většiny zákazníků vnímány jako nejzdravější varianta masných výrobků. Dále jsme se zaměřili na výpočet obsahu soli, obsah a složení tuku a obsah vlákniny v obloženém pečivu.

Materiál

Bylo analyzováno 20 pekařských výrobků (chléb a běžné pečivo) z tržní sítě ČR zakoupených v druhém pololetí 2014 a 20 šunek (13 z vepřového masa, 3 z kuřecího a 2 z krůtího, dvě šunky byly speciální (Jamom a Schwarzwaldská)) z tržní sítě ČR v roce 2016. Analýzy provedla akreditovaná laboratoř ALS Food&Pharmaceutical.

Výsledky

Obsah soli v pekařských výrobcích

Výsledky testu šunek (g/100 g)

Výrobek	Sůl	SFA	Bílkoviny
Delikates vepřová šunka Royal (Ponnath)	1,79	0,84	18,5
Krůtí filet (LE&CO)	1,92	0,37	23,0
Dušená šunka Junior (Schneider)	1,51	1,22	18,1
Šunka Zimbo Knusper (SRN)	2,23	1,68	21,0
Krůtí prsní šunka (LE&CO)	1,88	0,26	19,5
Vepřová šunka Royal (KK Miloš Křeček)	1,89	0,58	15,1
Váhalova šunka výběrová (Váhala)	1,43	3,12	19,8
PIKOK Šunka Moravia (Steinhauser)	1,96	2,02	18,8
Šunka Zvonařka (Vocílka)	2,10	2,26	18,6
Gustoso, dušená šunka (Prantl, Masný pr.)	2,19	2,28	18,9
Retro vepřová šunka (Idema foods)	2,30	0,62	19,4
Excelent dušená šunka (Chodura, Bes. uz.)	2,33	0,84	18,7
Královská šunka (Krásno)	2,36	0,69	15,6
Royal šunka (Dulano)	2,37	0,39	20,8

Kuřecí šunka (Vodňanské kuře)	2,39	0,26	17,1
Kuřecí prsní šunka (DZ (Klatovy)	2,50	0,37	15,6
Wellness schinken (Mein Bergen schinken)	2,52	0,46	19,1
Poctivá pečená šunka (Kostelecké uzeniny)	2,82	1,67	20,5
Original Jamom Serrano	3,78	7,01	25,5
Schwarzwälder schinken	4,70	4,6	25,6

Výsledky simulačních výpočtů výživové hodnoty obloženého pečiva

Chléb s čerstvým sýrem a rajčaty

		Sendvič A	Sendvič B	Sendvič C	Sendvič D	Sendvič E	
WHO	Energetická hodnota (kcal/100 g)	192	205	188	185	168	≤ 225
	Tuky celkem (g/100 g)	9,2	11,1	9,2	8,5	6,3	≤ 10
	Nasycené MK* (g/100 g)	2,4	3,7	3,2	5,2	2,7	≤ 4
	Sůl (mg/100 g)	427	427	441	664	454	≤ 1000
VCJ	Nasycené MK* (energ. %)	11,5	16,3	15,3	25,4	14,6	≤ 13
	Sůl (mg/kcal)	2,2	2,1	2,3	3,6	2,7	≤ 4,75
	Vláknina (g/kcal)	1,2	1,1	1,2	1,2	1,4	≥0,8
		RT 70% Cottage	RT 70% Gervais	RT 45% Gervais	máslo Cottage	pomazánkové Cottage	

Toastový chléb se sýrem a okurkou

WHO	Energetická hodnota (kcal/100 g)	176	168	153	214	≤ 225
	Tuky celkem (g/100 g)	8,8	8,7	6,2	13	≤ 10
	Nasycené MK* (g/100 g)	3,4	3,8	2,1	8,5	≤ 4
	Sůl (mg/100 g)	655	747	604	1028	≤ 1000
VCJ	Nasycené MK* (energ. %)	17,1	20,1	12,5	35,6	≤ 13
	Sůl (mg/kcal)	3,7	4,4	3,9	4,8	≤ 4,75
	Vláknina (g/kcal)	0,8	0,9	1	0,6	≥0,8
		RT 70% Eidam 30%	RT 45% Eidam 45%	RT 45 % Eidam 20%	máslo Niva	

Rohlík se šunkou/salámem a zeleninou

		RT 70% kr. šunka	máslo kr. šunka	pomazánk ovékr. šunka	máslo vysočina	RT 45% vysočina	
WHO	Energetická hodnota (kcal/100 g)	181	189	155	258	231	≤ 225
	Tuky celkem (g/100 g)	7,6	8,6	4,5	16,4	13,4	≤ 10
	Nasycené MK* (g/100 g)	1,6	4,6	1,9	6,9	3,3	≤ 4
	Sůl (g/100 g)	766	741	796	1138	1179	≤ 1000
VCJ	Nasycené MK* (energ. %)	7,9	21,9	11	24	12,8	≤ 13
	Sůl (mg/kcal)	4,2	3,9	5,1	4,4	5,1	≤ 4,75
	Vláknina (g/kcal)	1,2	1,1	1,4	0,6	0,6	≥0,8

Závěr

Obsah soli v 20 pekařských výrobcích se pohyboval v rozmezí 0,71 – 1,83 g/100 g a ve 20 šunkách byl obsah soli 1,51 - 4,70 g/100 g. Výpočtem byl zjištěn obsah soli v obloženém pečivu z analyzovaných potravin a ze sýrů, u kterých byl použit obsah soli uváděný v databázích. Pokud kombinujeme pekařské výrobky se sýrem nebo šunkou, případně s oběma často překročíme limity WHO pro sůl i další živiny.

Doporučení pro výrobce: postupně snižovat obsah soli v pekařských a masných výrobcích a sýrech.

Doporučení pro spotřebitele: vybírat si výrobky s nižším obsahem soli a v případě výrobků s vyšším obsahem soli konzumovat pouze malá množství. Spotřebitelé by měli při nákupu sledovat tabulku výživových hodnot ve které je obsah soli uváděn (do 13.12.2014 se uváděl obsah sodíku), která je na většině balených výrobků. Výběr výrobků s nižším obsahem soli i dalších rizikových živin (nasycených a trans mastných kyselin a přidaného cukru) ulehčí logo Vím, co jím.

Literatura

Košťálová A., Sůl – kdy pomáhá a škodí (2015), Výživa a potraviny – Zpravodaj pro školní stavování, 70 (3), 35-37

Velíšek J., Hajšlová J., Chemie potravin (3.vydání), OSSIS, Tábor, 2009

Výživová doporučení pro obyvatelstvo Společnosti pro výživu 2012, http://www.vyzivaspol.cz/rubrika-dokumenty/konecne-zneni-vyzivovych-doporuceni.html staženo 22.7.2016

R 20

SŮL, SODÍK A MASNÉ VÝROBKY

Saláková A.[1], Kameník J.[1], Vyskočilová, V.[2], Pechová A.[2]
[1)] Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie masa, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, salakovaa@vfu.cz
[2)] Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav biochemie a biofyziky, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

Abstrakt
Sůl (NaCl) je vyhledávanou nositelkou chuti, zdrojem sodíku a chlóru. Doporučená denní spotřeba soli je 5 g na osobu, v České republice je spotřeba soli na osobu a den vyšší 8 – 12 g (někde uváděno až 16 g). Nejvíce soli v současnosti přijímáme z vyrobených a zpracovaných potravin, pouze asi 10 % tak připadá na přídavek soli při vaření a dosolování a 10 % soli obsahují potraviny přirozeně. Vysoký příjem soli má i svá zdravotní rizika. Jeden z hlavních zdrojů soli (sodíku) jsou masné výrobky, u kterých se hodně řeší snížení přídavku NaCl nebo jeho částečné nahrazení. Cílem je udržet požadované technologické a senzorické vlastnosti výrobku, na které jsou konzumenti zvyklí u běžných masných výrobků s chloridem sodným. NaCl v masných výrobcích zastává mnoho funkcí: přispívá ke kapacitě zadržování závazné vody, tuku, zlepšení barvy, chuti a textury. Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 se „solí“ rozumí obsah ekvivalentu soli vypočtený podle vzorce: sůl = sodík × 2,5. Cílem práce bylo stanovení obsahu soli a sodíku u masných výrobků a porovnání obsahu sodíku přepočteného na obsah soli u masných výrobků s chemicky stanoveným obsahem soli (chloridů).

Klíčová slova: sodík, chloridy, sůl, spotřeba soli

Úvod
Chlorid sodný (NaCl), běžně označován jako kuchyňská či jedlá sůl, je chemická sloučenina chlóru (Cl), sodíku (Na) a dalších příměsí. Sodík i chlór představují pro život nezbytné látky, které se přirozeně vyskytují ve všech potravinách.

Podle zákona o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů č. 110/1997 Sb., ve znění pozdějších předpisů, je sůl definována jako *„krystalický produkt obsahující nejméně 97 % chloridu sodného v sušině, obohacený případně potravním doplňkem“* (Vyhláška č. 331/1997). Podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady 1169/2011 v platném znění se „solí“ rozumí obsah ekvivalentu soli vypočtený podle vzorce: sůl = sodík × 2,5.

Potraviny rozdělujeme podle obsahu sodíku na (Grofová, 2007):

- ***potraviny s velmi nízkým obsahem sodíku***
  (ovoce, čerstvá zelenina, cukr, cukrovinky, některé mléčné výrobky – nejvýše 0,4 g Na/1 kg potraviny);
- ***potraviny s nízkým obsahem sodíku***
  (ryby, čerstvé maso, drůbež, mléko a mléčné výrobky (kromě tvrdých a tavených sýrů) – 0,4 až 1,2 g Na/1 kg potraviny);
- ***potraviny s vysokým obsahem sodíku***
  (některé druhy chleba a pečiva, nakládaná zelenina – 1,2 až 4,0 g Na/1 kg potraviny);
- ***potraviny s velmi vysokým obsahem sodíku***
  (masné výrobky, tvrdé a tavené sýry, sušené polévky, zelenina ve slaném nálevu, slané pochutiny – více než 4 g Na/1 kg potraviny).

Dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady 1333/2008 ve znění 1129/2011 existuje 190 přídatných látek obsahujících sodík a 15 přídatných látek obsahujících chlór. Příklad přídatných látek používaných při výrobě masných výrobků: E250 – dusitan sodný, E301 – askorbát sodný, E316 – erythorban sodný, E450, E451, E452 – polyfosfáty, E621 – glutamát sodný, E325 – mléčnan

sodný, E331 – citrát sodný; E508 – chlorid draselný, E511 – chlorid hořečnatý, E 509 – chlorid vápenatý.

Spotřeba soli

Nejvíce soli v současnosti přijímáme z vyrobených a zpracovaných potravin 80 % (75 – 80 %), pouze 10 % (10 – 15 %) tak připadá na přídavek soli při vaření a dosolování a 10 % (5 – 10 %) soli obsahují potraviny přirozeně (Tisková zpráva, 2013, Kloss et al., 2015).

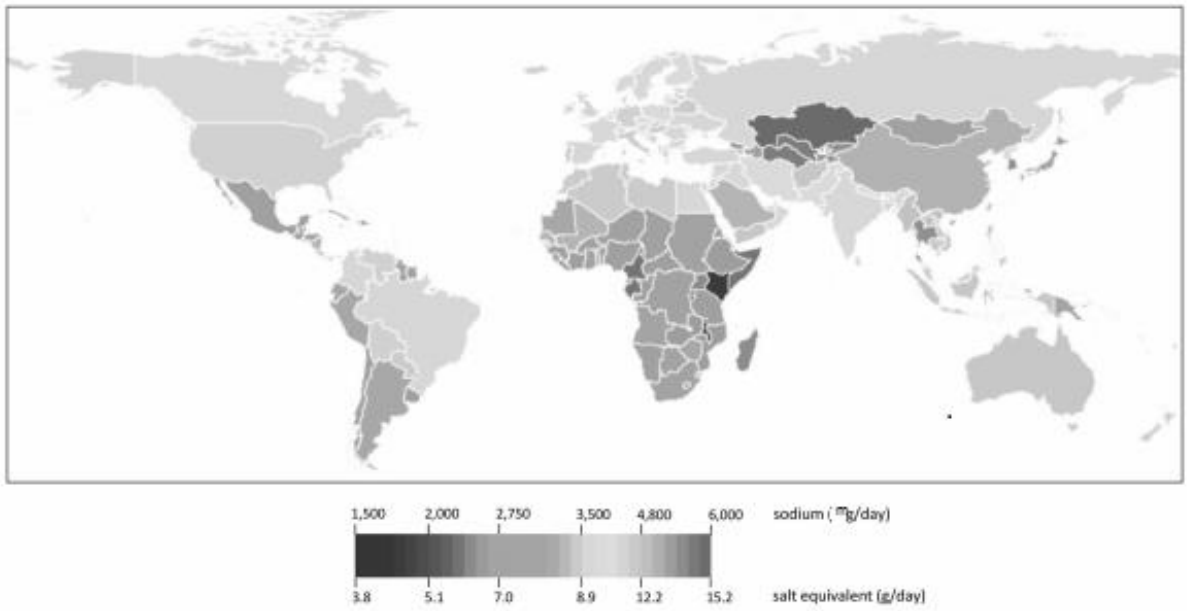
WHO (světová zdravotnická organizace) doporučuje spotřebu 5g soli na den, tzn., že na solení při vaření a dosolování pokrmů bychom měli použít pouze 1 gram soli. Zbylé 4 g soli přijmeme z hotových potravin. V Tabulce č. 1 a na Obrázku č. 1 jsou uvedeny denní spotřeby soli v Evropě a ve světě.

Tabulka č. 1: Spotřeba soli v EU na osobu v g/den – shrnutí (Kloss et al. 2015)

	spotřeba soli g/osoba/den	
stát	**EU Framework (2012)**	**Powles et al. (2013)**
Česká republika	13,6	10,1
Slovinsko	12,7	10,7
Maďarsko	12,5	10,7
Portugalsko	12,3	10,8
Polsko	11,5	9,8
Rumunsko	11,1	10,5
Belgie	10,5	8,8
Estonsko	10,0	10,0
Norsko	10,0	9,7
Španělsko	10,0	10,2
Itálie	9,6	11,2
Litva	9,0	10,3
Švýcarsko	9,0	9,2
Nizozemí	8,7	8,4
Dánsko	8,6	8,3
Francie	8,6	9,6
Rakousko	8,5	10,0
Finsko	8,1	9,8
Velká Británie	8,1	9,2
Švédsko	8,0	9,3
Slovensko	7,6	10,7
Lotyšsko	7,3	10,6
Bulharsko	7,1	9,2
Kypr	6,5	10,3
Německo	6,3	9,0

Mezi skupiny potravin s největším zastoupením sodíku patří zpracované maso – masné výrobky (1030 mg Na/100 g), sýry (820 mg Na/100 g) a omáčky (752 mg Na/100 g). Nejnižší koncentrace sodíku se pak nachází u zavařenin (286 mg Na/ 100 g) a dortů (322 mg Na/ 100 g) (Capuano et al., 2013). Hlavním zdrojem soli bývají cereálie a výrobky z obilovin 35 %; a maso a masné výrobky 26 % (Philips, 2003). Podle Ruusunen a Puolanne (2005) tvoří příjem sodíku z jídel obsahujících maso 22 – 24 % doporučené denní dávky.

Cílem práce bylo stanovení obsahu soli a sodíku u masných výrobků a porovnání obsahu sodíku přepočteného na obsah soli u masných výrobků s chemicky stanoveným obsahem soli (chloridů).



Obrázek č. 1: Příjem sodíku a soli (g/den) ve světě u dospělé populace (20 let více, ženy a muži dohromady) v roce 2010 (Powles et al., 2013)

Materiál a metody

Vzorky masných výrobků byly pořízeny v tržní síti v České republice a Německu. Pro porovnání byly použity výrobky z Nizozemí autorů Capuano et al. (2013).

Stanovení obsahu Na

Vzorky byly zmineralizovány mikrovlnným rozkladným systémem Milestone Ethos SEL (Milestone, Itálie) při teplotě 200 °C, po dobu 30 minut. Vzorky byly analyzovány plamenovou atomovou absorpční spektroskopií (FAAS), přístrojem ContrAA 700 (Analytik Jena, Německo). Obsah sodíku byl přepočten na obsah soli za pomoci koeficientu 2,5.

Stanovení obsahu Cl

Obsah chloridů byl stanoven titračně metodou podle Mohra – titrace $AgNO_3$ a přepočet na obsah soli.

Výsledky

V Tabulkách 2 – 4 jsou uvedeny výsledky stanovení obsahu soli přes chloridy (Cl) a přes sodík (Na). U výrobků pocházejících mimo Českou republiku jsou názvy výrobků uvedeny v závorkách – zahraniční názvy byly pro názornost uzpůsobeny českých názvům masných výrobků.

Tabulka č. 2: Obsah soli u masných výrobků pocházejících z Nizozemí (Capuano et al., 2013)

Nizozemí	počet vzorků	Cl (%)	Na (%)
„UZENÁ ŠUNKA“	5	2,00±0,60	2,43±0,90
„KLOBÁSA“	10	1,73±0,41	2,67±0,51
„PÁRKY“	12	1,71±0,13	1,93±0,16
„TRVANLIVÝ SALÁM“	10	3,01±0,57	3,39±0,41
„JÁTROVÁ PAŠTIKA“	9	1,78±0,20	2,00±0,30
„ŠUNKA VÝBĚROVÁ“	5	1,97±0,30	2,66±0,32
„SLANINA“	8	3,19±1,08	3,48±0,88

Obsah sodíku v čerstvém nezpracovaném mase je v rozmezí 60 – 80 mg Na/ 100 g, což odpovídá 0,15 – 0,2 mg NaCl/ 100 g (Kloss et al. 2015). U masných výrobků se obsah soli mění v závislosti na typu výrobků. Autoři Capuano et al. (2013) zjistili u masných výrobků vyšší podíl soli stanovený přes obsah sodíku (1,93 – 3,48 %) v porovnání s obsahem soli stanovené přes chloridy (1,71 – 3,19). Naše analýzy ukazují u některých vzorků nižší hodnoty obsahu soli stanovené přes sodík v porovnání s obsahem soli stanoveným přes chloridy. Vzhledem k přídavku dalších sodných látek (kromě NaCl) při výrobě masných výrobků by obsah soli stanovený přes sodík měl být vyšší v porovnání s obsahem soli stanoveným přes obsah chloridů. Výsledky zde uváděné jsou začátkem našich experimentů s metodami pro stanovení obsahu soli a pro vyvození jednoznačných závěrů je ještě třeba proměřit další vzorky.

Tabulka č. 3: Obsah soli u výrobků pocházejících z České republiky

Česká republika	počet vzorků	Cl (%)	Na (%)
ŠPEKÁČEK	15	2,05±0,33	2,10±0,35
GOTHAJSKÝ SALÁM	14	2,28±0,21	2,38±0,19
ŠUNKOVÝ SALÁM	15	2,35±0,21	2,43±0,32
ŠUNKA VÝBĚROVÁ	13	2,49±0,17	2,56±0,23
JEMNÉ PÁRKY	12	2,42±0,21	2,51±0,24
VYSOČINA	3	2,79±0,05	2,68±0,32
JUNIOR	4	1,82±0,04	1,93±0,16

Tabulka č. 4: Obsah soli u výrobků pocházejících z Německa

Německo	počet vzorků	Cl (%)	Na (%)
„ŠPEKÁČEK“	5	2,27±0,12	2,34±0,15
„GOTHAJSKÝ SALÁM“	5	2,11±0,28	2,03±0,42
„ŠUNKOVÝ SALÁM“	5	2,29±0,21	2,20±0,17
„ŠUNKA VÝBĚROVÁ“	5	2,51±0,35	2,64±0,35
„JEMNÉ PÁRKY“	5	1,95±0,28	1,95±0,33

Závěr

- v roce 2010 je příjem obsahu sodíku u většiny světové populace vyšší než v roce 1990
- nejen v masných výrobcích je sůl
- zdrojem soli bývají hlavně cereálie a výrobky z obilovin 35%; a maso a masné výrobky 22 – 26 %
- bez soli to nejde

Seznam použité literatury

Capuano E. et al. Comparison of a sodium-based and a chloride-based approach for the determination of sodium chloride content of processed foods in the Netherlands. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2013, p. 129 – 136.

EU Framework 2012. Implementation of the EU Salt Reduction Framework Results of Member States survey [on-line]http://ec.europa.eu/health/nutrition_physical_activity/docs/salt_report_en.pdf

Grofová, Z., Nutriční podpora – praktický rádce pro sestry, Grada Publishing a. s., 2007, 248 s.
Kloss, L., Dawn Meyer, J., Greave, L., Vetter, W. Sodium intake and its reduction by food reformulation in the European Union –A review. *MFS Journal*, 2015, p. 9 – 19.
NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 1169/2011ze dne 25. října 2011o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnic Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004
NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1129/2011ze dne 11. listopadu 2011, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 vytvořením seznamu potravinářských přídatných látek Unie
Philips, F. Don't pass the salt, British Nutrition Foundation *Nutrition Bulletin*, 2003, 339–340
Powles, J. et al. Global, regional and national sodium intakes in 1990 and 2010: a systematic analysis of 24 h urinary sodium excretion and dietary surveys worldwide. *BMJ Open*, 2013, p. 1 – 20.
Ruusunen, M., Puolanne, E. Reducing sodium intake from meat products, *Meat science*, 2005, p. 531 – 541.
Tisková zpráva, 2013. Ministerstvo zdravotnictví ČR. 3 s.
Vyhláška č. 331/1997 ze dne 11. 12. 1997, kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky a ochucovadla a hořčici, ve znění vyhlášky č. 419/2000 Sb.

R 21

MOŽNOSTI SNÍŽENÍ SODNÝCH IONTŮ V MASNÝCH VÝROBCÍCH

Škorpilová T., Skřivánek A., Pipek P.
Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Souhrn

Nadměrný příjem sodíku je hodnocen kriticky ze zdravotního hlediska, proto se hledají možnosti, jak jeho obsah v potravinách snížit či nahradit. Cílem této práce bylo vyzkoušet možnosti částečného nahrazení sodíku v masných výrobcích chloridem či mléčnanem draselným. Nejprve byly vyzkoušeny různé kombinace vodných roztoků sodných a draselných solí (chloridy, mléčnany), na základě výsledků senzorické analýzy byly v laboratorním měřítku připraveny modelové masné výrobky a po ověření byly stejné receptury použity pro přípravu masných výrobků v provozních podmínkách. Byl sledován vliv složení solicí směsi na texturu, barvu, údržnost a organoleptické vlastnosti. Ze získaných výsledků vyplývá, že chlorid sodný lze v masných výrobcích bez negativního ovlivnění jakosti částečně nahradit draselnými solemi.

Klíčová slova: masné výrobky, snížení obsahu sodných iontů, technologické a organoleptické vlastnosti

Úvod

Chlorid sodný je jednou z nejstarších konzervačních přísad používaných při výrobě masných výrobků, pozitivně ovlivňuje technologické a organoleptické vlastnosti. Mnohé studie však poukazují na negativní vliv na lidské zdraví, protože nadměrný příjem sodíku přispívá ke zvyšování krevního tlaku a tím k rozvoji kardiovaskulárních a dalších onemocnění /Puolanne a Ruunusen, 2005/.

Hlavní účel přídavku chloridu sodného je uvolnění svalových bílkovin, a tím vytvoření struktury masného výrobku. Vedle toho chlorid sodný přispívá k údržnosti a v neposlední řadě zvýrazňuje typickou chuť masných výrobků /Bidlas a Lambert, 2008; Desmond, 2006/.

V odborné literatuře se uvádí několik možností, jak snížit obsah chloridu sodného v masných výrobcích. Nejméně náročnou je řízené snižování obsahu soli v masných výrobcích až na hladinu, která neovlivní technologické ani organoleptické vlastnosti výrobku /Kloss *et al*., 2015; Phelps *et al*., 2006; Puolanne a Ruunusen, 2005/. Toto má však své omezení, proto další snižování obsahu sodíku je možné částečným či úplným nahrazením chloridu sodného jinými látkami, které negativně neovlivní technologické a organoleptické vlastnosti výrobku. Jako náhrada chloridu sodného mohou sloužit jiné chloridy (draselný, vápenatý, či hořečnatý) a mléčnany (sodný, draselný) /Desmond, 2006/, které jsou s různými výsledky zkoušeny v některých výrobcích

Z hlediska chuti (bez úvahy o technologických souvislostech) se nabízí se i další řešení snížení obsahu sodíku. Jde o nalezení netoxických přírodních látek, které zvýrazní slanou chuť, nebo ovlivní, struktury potraviny tak, aby byly co nejrychleji stimulovány receptory pro slanou chuť /Kloss *et al*., 2015; Opletal *et al*., 2011/. Jinou možností je změna tvaru a velikosti krystalů chloridu sodného tak, aby se sůl v ústech rozpouštěla rychleji a vjem slanosti se dostavil dříve /Desmond, 2006; Phelps *et al*., 2006/. Toto se však netýká masných výrobků, protože chlorid sodný je zde ve formě roztoku.

Materiál a metody

Ve vlastní experimentální práci jsme ověřovali, zda je možné snížit obsah sodíku náhradou za jiné prvky nebo soli bez negativního ovlivnění technologických a organoleptických vlastností.

Vedle senzorického hodnocení chutnosti byla sledována údržnost na základě růstu celkových počtů mikroorganismů (CPM), barva a textura.

Všechny vzorky byly podstoupeny senzorickému panelu 30 hodnotitelů, kdy každá chuť, nebo vlastnost byla hodnocena pomocí deseticentimetrové stupnice. Síla potřebná ke stlačení válcovitého vzorku o výšce 25 mm o 80 % jeho výšky byla měřena pomocí texturometru Instron a vyhodnocena pomocí softwarového programu Merlin. Hodnoty L*, a* a b* byly měřeny pomocí spektrofotometru Minolta CM-5. CPM byly kultivovány na PCA agaru při teplotě 37 °C po dobu 14 dní.

Nejprve byla ověřena chuť čistých solí ve vodných roztocích, kde koncentrace solí byly nahrazeny ekvimolárně, tedy bez rušivého vlivu rozdílné relativní molekulové hmotnosti. Přehled hodnocených roztoků je uveden v tabulce I.

Tab. I: Přehled roztoků pro senzorické hodnocení; ekvimolární náhrada chloridu sodného

Vzorek	Chlorid sodný	Chlorid draselný	Mléčnan draselný
R1	100	-	-
R2	0	50	50
R3	0	75	25
R4	0	25	75

Následně byly v laboratorních podmínkách připraveny modelové masné výrobky kde původní přídavek chloridu sodného (2 %) byl nahrazen chloridem draselným, mléčnanem draselným nebo jejich kombinací. Složení solicích směsí, resp. ekvimolární náhrady chloridu sodného jsou uvedeny v tabulce II. U těchto vzorků byla hodnocena senzorická přijatelnost náhrady chloridu sodného.

Tab. II: Přehled solicích směsí pro laboratorně připravené masné výrobky; ekvimolární náhrada chloridu sodného

Vzorek	Chlorid sodný	Chlorid draselný	Mléčnan draselný
L1	100	-	-
L2	75	25	-
L3	50	-	50
L4	0	50	50

Po laboratorním ověření byly použity stejné kombinace solicích směsí pro vzorky homogenního měkkého salámu, protože se ze senzorického hlediska osvědčily u laboratorně připravených vzorků. Společná základní směs mas, koření a ledu (300 kg) byla předřezána a předmíchána na kutru, rozdělena na 6 stejných dávek (po 50 kg) a s přídavkem příslušné solicí směsi dokončeno kutrování. Vzorky díla byly naraženy do polyamidových střev (kalibr 75 mm) a tepelně opracovány obvyklým způsobem. Přehled kombinací solicích směsí, resp. ekvimolární náhrady chloridu sodného je uveden v tabulce III.

Tab. III: Přehled solicích směsí pro průmyslově vyrobené masné výrobky; ekvimolární náhrada chloridu sodného

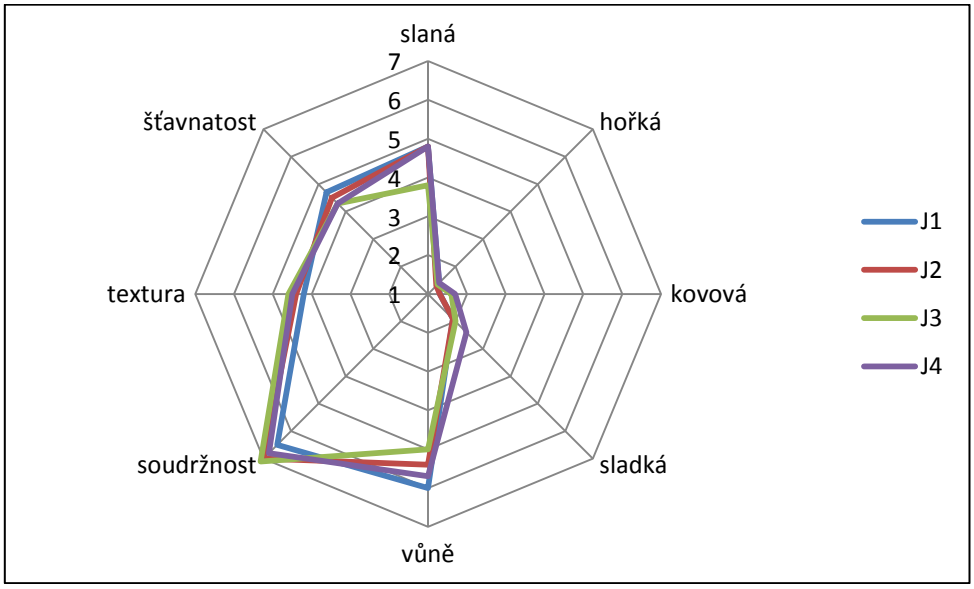
Vzorek	Chlorid sodný	Chlorid draselný	Mléčnan draselný
J1	100	-	-
J2	75	25	-
J3	50	-	50
J4	0	50	50

Výsledky a diskuze

Jako první byly senzorické analýze podrobeny roztoky solicích směsí. Nejprve byly zjištěny prahové koncentrace jednotlivých látek, aby jejich intenzita nebyla pro hodnotitele příliš vysoká, nebo nízká. Všechny zkoušené roztoky (viz Tab. I) byly hodnotiteli ohodnoceny velmi podobně, jen slanost byla u roztoku chloridu sodného hodnocena jako vyšší.

Na základě těchto informací byly připraveny v laboratorním měřítku masné výrobky (2 % NaCl, nebo ekvimolární náhrada jinými solemi – viz Tab. II). Nebylo přidáno žádné koření, aby nebyla ovlivněna chuť jinými látkami. Výsledky senzorické analýzy byly obdobné jako v případě roztoků solí. Slaná chuť byla pro hodnotitele intenzivnější u vzorků s chloridem sodným (L1), ostatní chutě (sladká, hořká a kovová) byly hodnoceny podobně u všech vzorků.

Jelikož výsledky senzorické analýzy laboratorně vyrobených výrobků byly kladné, byly vyrobeny v průmyslovém měřítku masné výrobky se stejnou náhradou solí, a byly kromě organoleptických vlastností (Obr. 1) sledovány i textura (Tab. IV), barva (Tab. V) a mikrobiální růst.



Obr. 1: Senzorická analýza salámu Junior

Z výsledků senzorické analýzy (Obr. 1) je patrné, že hodnotitelé nežádoucí chutě (hořká, kovová a sladká) v masném výrobku téměř nevnímali a ostatní vlastnosti (vůně, soudržnost, textura a šťavnatost) hodnotili podobně.

Sledováním vlivu použitých solicích směsí na texturu masného výrobku (Tab. IV) bylo zjištěno, že u vzorků J2 je textura téměř stejná jako u standardu, naopak u výrobku J3 a zejména u J4 byla oproti standardu pevnější.

Tab. IV: Vliv použitých solí na texturu salámu

Vzorek	Síla (N)
J1	68,67 ± 6,04
J2	68,31 ± 5,46
J3	72,57 ± 2,63
J4	77,70 ± 4,77

Vliv použitých solí na barvu byl zanedbatelný. Hodnoty L* (světlost), a* (červená barva a b* (žlutá barva) byly stejné (Tab. V).

Tab. V: Vliv použitých solí na barvu salámu

Vzorek	Měřené hodnoty		
	L*	**a***	**b***
J1	57,6	26,2	28,1
J2	56,6	27,6	29,7
J3	58,2	26,1	27,2
J4	56,5	27,6	29,7

Mikrobiologická kontaminace všech vzorků byla po celou dobu sledování u všech vzorků pod mezí detekce vzhledem k dostatečné pasteraci, takže nebylo možné zjistit vliv použitých solí.

Závěr

Ze získaných výsledků je patrné, že snížení obsahu sodných iontů pomocí jiných solí je možné, protože nebyla významně ovlivněna senzorická jakost ani technologické vlastnosti výrobku.

Literatura

Bidlas, E., Lambert, R., J., W. (2008): Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. International Journal of Food Microbiology. 124, 98-102.

Desmond, E. (2006): Reducing salt: A challenge for the meat industry. Meat Science. 74, č. 1, 188-196.

Kloss, L., Meyer, J., D., Graeve, L., Vetter, W. (2015): Sodium intake and its reduction by food reformulation in the European Union – A review. NFS Journal, 1, 9 – 19.

Phelps, T., Angus, F., Clegg, S., Kilcast, D., Narain, C., den Ridder, C. (2006): Sensory issues in salt reduction. Food Quality and Preference, 17, 663 – 634.

Puolanne, E., Ruusunen, M. (2005): Reducing sodium intake from meat products. Meat Science, 70, č. 3, 531-541.

R 22

AUTENTIFIKACE A KVANTIFIKACE KOMERČNĚ VÝZNAMNÝCH DRUHŮ MASA POMOCÍ DNA ANALÝZY

Zdeňková K., Koncošová M., Akhatová D. a Demnerová K.
Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, Praha 6, 16628

Souhrn

S ohledem na svou cenu jsou maso a masné výrobky jednou z nejčastěji falšovaných komodit. Jedním ze způsobů klamání zákazníků je náhrada jakostního druhu masa masem méně hodnotným nebo uvádění nesprávného poměru obsahu druhů masa na etiketě výrobku. Cílem této práce bylo navržení a ověření metodiky na odhalení těchto nesrovnalostí založené na polymerázové řetězové reakci (PCR). Postup zahrnuje izolaci deoxyribonukleové kyseliny ze vzorků masa a masných výrobků, protokoly PCR navržené pro kontrolu autenticity biologického původu vzorku a kvantifikaci podílu DNA hovězího a vepřového masa. K izolaci deoxyribonukleové kyseliny byl vybrán a experimentálně ověřen protokol definovaný v normě ČSN EN ISO 21571 využívající ionogenní detergent cetyltrimetylamonium bromid (CTAB). K druhové identifikaci byla použita kvalitativní mnohonásobná PCR se specifickými primery komplementárními k mitochondriální DNA prasat, skotu, drůbeže, koně a ke genomové DNA savců a drůbeže. Při návrhu metodiky bylo přihlédnuto k faktu, že jednotlivé živočišné druhy mají odlišnou sekvenci mitochondriální DNA v genu pro cytochrom b. Detekční limit genomové DNA byl stanoven na 0,3 ng DNA v reakci. Pro určení zastoupení vybraných druhů masa byla použita metoda kvantitativní PCR s fluorescenční detekcí v reálném čase (qPCR). Byla provedena relativní kvantifikace s primery a sondami specificky rozpoznávající sekvence cílových DNA vepřového beta aktinu, hovězí cGMP fosfodiesterázy a genu kódujícího myostatin. Kvantifikace všech tří cílových úseků byly prováděny simultánně v jedné amplifikační reakci, efektivita procesů byla ověřena prostřednictvím DNA různé koncentrace.

Úvod

Maso a masné výrobky patří k nejdražším potravinám a proto spadají do kategorie nejčastěji falšovaných komodit. Ke způsobům klamání zákazníků patří náhrada jakostního druhu masa masem méně hodnotným či uvádění nesprávného poměru obsahu druhu masa na etiketě výrobku, což nepoctivým výrobcům přináší ekonomicky profit na úkor spokojenosti spotřebitele. Falšování masa je aktuálním a závažným problémem v celosvětovém měřítku. V publikaci z roku 2009 Ballin *et al.*[i] shrnují statistické údaje, dle kterých přibližně 19,4 % masných výrobků v USA, 22 % v Turecku, 15 % ve Švýcarsku a 8 % ve Spojeném království bylo na etiketách špatně označeno. V Turecku bylo zjištěno, že v párcích deklarujících obsah 5 % hovězího masa nebyla detekována přítomnost hovězí DNA a v hovězích masových kuličkách (deklarované jako 100% hovězí) byla nalezena kuřecí a krůtí DNA[ii].

Materiál a metody

Při analýze bylo použito maso hovězí, vepřové, kuřecí, koňské a svalovina pstruha; vepřová šunka; 9 masových směsí různého zastoupení hovězí a vepřové svaloviny - hmotnostní poměr v gramech 1:99, 5:95, 10:90, 25:75, 50:50, 75:25, 90:10, 95:5 a 99:1, a 8 masných výrobků (párky, špekáčky, šunka, klobása, salám a sekaná).

Pracovní postup DNA analýzy vzorku masa či masného výrobku je nejčastěji složen ze šesti navazujících kroků: ad I) odběr a příprava vzorku; ad II) homogenizace a vážení laboratorního vzorku; ad III) izolace DNA, odhad kvality a kvantity DNA a ředění na požadovanou koncentraci; ad IV) kvalitativní PCR a ad V) kvantitativní PCR; ad VI) vyhodnocení získaných výsledků (viz. Schéma 1). V předkládané práci byla izolace DNA provedena metodou využívající CTAB, analýza

získané DNA poté prostřednictvím PCR, tedy *in vitro* replikace umožňující mnohonásobné namnožení cílového úseku DNA během 2 - 3 hodin. Cyklickým opakováním kroků (denaturace templátu, nasednutí primerů a jejich prodlužování) dochází k syntéze úseku definovaného primery, komplementárními k 3´ a 5´ koncovým sekvencím cílového úseku, který tvoří hlavní produkt reakce[iii,iv]. Úseky použité v prezentované práci jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 6: Přehled cílový úseků amplifikovaných pomocí PCR.

Cílový druh	Amplifikovaný úsek	Specifikace
Kur domácí	cytochrom b (mitochondriální DNA)	Kvalitativní PCR - velikost produktu 227 bp[v]
Skot	cytochrom b (mitochondriální DNA)	Kvalitativní PCR - velikost produktu 274 bp[v]
Prase domácí	cytochrom b (mitochondriální DNA)	Kvalitativní PCR - velikost produktu 398 bp[v]
Kůň	cytochrom b (mitochondriální DNA)	Kvalitativní PCR - velikost produktu 439 bp[v]
Myostatin savců a drůběže	Myostatin (chromozomální DNA)	Kvalitativní PCR - velikost produktu 97 bp[vi]
Skot	cGMP fosfodiesteráza (chromozomální DNA)	Detekce a kvantifikace pomocí sondy značené Texas Red (modifikace 5' Texas Red - 3' BHQ-2)[vi]
Prase domácí	Beta-aktin (chromozomální DNA)	Detekce a kvantifikace pomocí sondy značené HEX (modifikace 5' HEX - 3' BHQ-1)[vi]
Myostatin savců a drůbeže	Myostatin (chromozomální DNA)	Detekce a kvantifikace pomocí sondy značené FAM (modifikace 5' FAM - 3' BHQ-1)[vi]

Výsledky a diskuse

V rámci práce byl navržen systém navazujících pracovních postupů založených na PCR metodice, návrh strategie je uveden na Schématu 1.

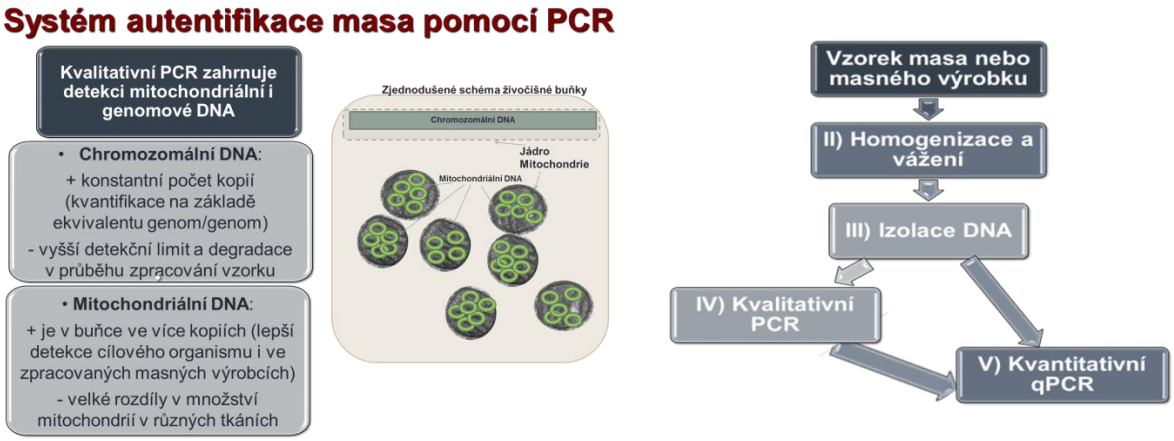
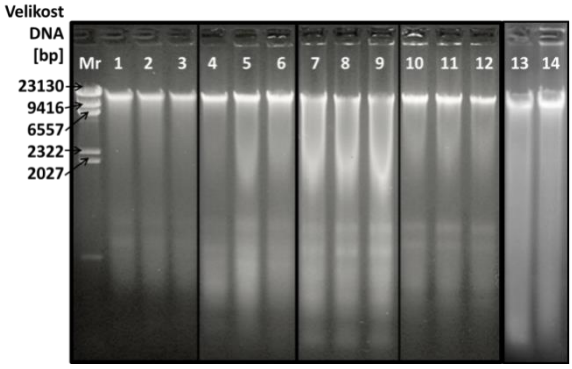


Schéma 1: Pracovní postup metodiky PCR pro autentifikaci původu masa a masných výrobků.

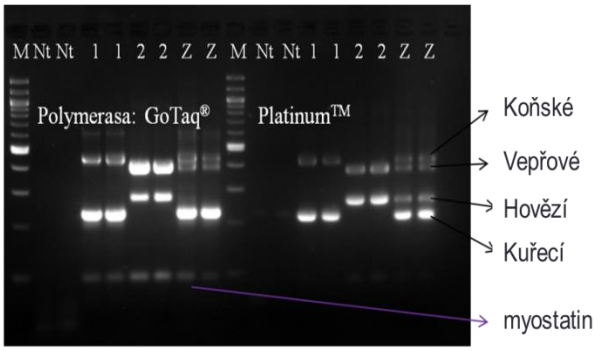
Byl použit protokol izolace DNA založený na metodě využívající ionogenní detergent CTAB[vii]. Původní protokol byl převzat z normy ČSN EN ISO 21571[viii], která určuje metody extrakce nukleové kyseliny pro detekci geneticky modifikovaných organismů (GMO) a odvozených produktů v potravinách. Výtěžnost a kvalita izolované DNA byla velmi dobrá, naměřené finální koncentrace se pohybovaly ≥ 50 ng/µl u hovězího masa, u vepřového masa ≥ 100 ng/µl, u kuřecího masa ≥ 200 ng/µl a u koňského masa ≥ 100 ng/µl (viz. Obrázek 2). Schopnost amplifikace získaného DNA byla ověřena pomocí multiplex PCR, která umožňuje analýzu více parametrů v jedné reakci díky přídavku násobného množství párů primerů do reakční směsi. Multiplex uspořádání urychluje analýzu vzorku, je cenově příznivější, ale náročnější na návrh a verifikaci metodiky.

Pro kvalitativní analýzu byl vybrán pentaplex PCR s primery komplementárními k úseku cytochromu b mitochondriální DNA prasat, skotu, kuřat, koní a ke genu kódujícímu myostatin savců a drůbeže. Při návrhu metodiky bylo vycházeno z poznatku, že jednotlivé živočišné druhy se

liší v sekvenci DNA, v rámci jednoho druhu je však sekvence stejná. Chromozomální DNA je v živočišných buňkách zastoupena v jádře buňky, mitochondriální DNA se vyskytuje ve vyšším počtu kopií v mitochondriích (viz. Schéma 1). Kombinování analýzy mitochondriální i chromozomální DNA cílového organismu v jedné reakci přináší řadu výhod, např. vysokou citlivost PCR protokolu díky analýze mitochondriální DNA přítomné ve vyšším počtu kopií než chromozomální DNA, což zvyšuje šanci detekce malého množství nedeklarované příměsi[ix]. Při použití pentaplex uspořádání bohužel nebylo dosaženo amplifikace všech pěti testovaných úseků (viz. Obrázek 2). V následujícím kroku byla pentaplex reakce rozdělena do dvou triplex reakcí. Triplex analyzující přítomnost hovězího a vepřového masa a myostatinu pracuje velmi dobře s finančně nejvýhodnější testovanou Go Taq®polymerázou, absolutní detekční limit této metody je 0,3 ng DNA v reakci a relativní více než 1% a méně než 5 % složky ve směsi. V navazujících experimentech bude určen detekční limit druhého triplexu obsahujícího primery komplementární k úseku genu pro cytochrom b kuřecího a koňského masa a k úseku genu myostatinu savců a drůbeže.



Obrázek 2: Elektroforeogram DNA izolované CTAB metodou.
*Dráhy 1-3: hovězí maso; dráhy 4-6: vepřové maso; dráhy 7-9: kuřecí maso; dráhy 10-12: koňské maso; 13-14: vepřová šunka. Mr: marker λ/Hind*III *marker.*



Obrázek 3: Ukázka amplifikace pomocí pentaplex PCR.
Dráhy 1: směs kuřecího a koňského masa; dráhy 2: směs vepřového a hovězího masa; dráhy Z: směs hovězího, kuřecího, vepřového a koňského DNA; Nt: beztemplátová kontrola; Mr: 100 bp marker.

Pro určení zastoupení vybraných druhů masa byla použita metoda kvantitativní PCR s fluorescenční detekcí v reálném čase (qPCR), k relativní kvantifikaci byly použity úseky vyskytující se v jedné kopii v genomu cílového organismu (viz. Tabulka 1). Kvantifikace modelové masové směsi byla vyhovující pro zastoupení 5 - 99 g hovězí svaloviny ve 100 g směsi hovězí a vepřové svaloviny a 50-99 g vepřové svaloviny ve směsi. V následujících experimentech bude pozornost zaměřena na upravení podmínek reakce tak, aby umožnila rovněž přesnou kvantifikaci nízkého obsahu jednoho druhu masa ve směsi.

Navržené systémy byly použity k analýze 8 masných výrobků zakoupených v tržní síti ČR. Pět vybraných výrobků obsahovalo na etiketě údaj o procentuálním zastoupení jednotlivých druhů masa, tři výrobky uváděly pouze údaj o celkovém procentuálním zastoupení masa (směs hovězího a vepřového masa). Ze všech testovaných výrobků byla metodou CTAB izolována DNA dostatečné kvality i kvantity. Pro kvalitativní analýzu přítomnosti DNA skotu a vepřového byla použita triplex PCR, pro kvantitativní analýzu zastoupení hovězí a vepřové DNA triplex qPCR. V testovaném výrobku číslo I (salám) nebyla detekována hovězí DNA ani jednou z použitých metod, přestože výrobce na etiketě uvedl, že výrobek obsahuje 31 % hovězího masa. Výsledky analýz výrobků II (klobása) a III (párek) korespondovaly s údaji uvedenými na etiketě, u testovaného výrobku číslo IV (párek) byl detekován nižší podíl hovězího masa v porovnání s údaji uvedenými na etiketě. Výrobek číslo V (sekaná) byl složen z kuřecího a vepřového masa. Použitý systém detekoval snížený obsah vepřového DNA ve vzorku. Závěr však nemůže být jednoznačný, dokud nebude použit systém pro detekci a kvantifikaci kuřecí DNA. U testovaných výrobků číslo VI (špekáček), VII (salám) a VIII (párek) byly na etiketách uvedeny pouze celkové podíly masa ve výrobcích. Ve výrobcích VI a VII byla detekována a kvantifikována hovězí i vepřová DNA, což znamená, že

výrobce dodržel deklarovanou recepturu. Ve vzorku VI (špekáček) však byl prokázán velice nízký obsah hovězí DNA (≤ 3 %). Ve vzorku číslo VIII byla detekována vepřová DNA, ale nebyla detekována hovězí DNA. Tento výsledek znamená, že se buď jedná o falšování, nebo je zastoupení hovězího masa ve výrobku velice nízké.

Detekce masa v potravinách pomocí DNA analýzy je relativně jednoduchou záležitostí, kvantifikace jednotlivých druhů masa ve směsích či masných výrobcích je stále komplexní problematikou. Kvantitativní výsledky nemusí korelovat se složením výrobků v důsledku degradace DNA během výroby (teplo, kyseliny), podmínek skladování, jakož i skutečnosti, že tyto výrobky jsou složeny z různých tkání (například přidané sádlo či kůže), které obsahují rozdílné množství DNA na stejnou jednotku hmotnostiix. Obsah svalových bílkovin v masných výrobcích bývá stanovován pomocí spektrofotometrie, HPLC či izotachoforézy. Spojením metod určujících obsah svalových bílkovin s metodami autentifikace a kvantifikace živočišných druhů pomocí DNA lze zpřesnit analýzy a dosáhnout důvěryhodnějších výsledků.

Závěr

Byly navrženy a experimentálně ověřeny protokoly izolace DNA ze vzorků masa a masných výrobků, kvalitativní PCR pro čtyři vybrané druhy masa (hovězí, kuřecí, koňské a vepřové maso) a kvantitativní analýzy zastoupení hovězího a vepřového masa. Navržená metodika byla použita k analýze masných výrobků zakoupených v tržní síti ČR. Bylo prokázáno, že šest z osmi testovaných výrobků odpovídalo svým složením údajům uvedeným na etiketě, u dvou výrobků byly zjištěny nesrovnalosti mezi výsledky analýzy a deklarovaným složením uvedeným na etiketách výrobků. Lze předpokládat, že došlo k porušení deklarované receptury.

Poděkování

Práce byla podpořena grantem MZe (NAZV) QJ1530272: Komplexní strategie pro efektivní odhalování falšování potravin v řetězci (prvo)výroba – spotřebitel.

Literatura:

[1]Ballin N. Z., Vogensen F. K., Karlsson A. H. (2009): Species determination - Can we detect and quantify meat adulteration?. *Meat Science,* **83,** 165-174.

[1]Ali M. E., Razzak M. A., Hamid S. B. A. (2014): Multiplex PCR in Species Authentication: Probability and Prospects—A Review. *Food Analytical Methods,* **7,** 1933-1949.

[1]Ruml T., Rumlová M., Pačes V. (2002): Genové inženýrství. 1st ed, VŠCHT, Praha, česká republika, 270 stran.

[1]Gachet E., Martin G.G., Vigneau F., Meyer G. (1999): Detection of genetically modified organisms (GMOs) by PCR: a brief review of methodologies available. *Trends in Food Science and Technology,* **9**, 380-388.

[1]Matsunaga T., Chikuni K., Tanabe R., Muroya S., Shibata K., Yamada J., Shinmura Y. (1999): A quick and simple methor for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science,* **51**, 143-148.

[1]Iwobi A., Sebah D., Kreamer I., Losher C., Fisher G., Busch U., Huber I. (2015): A multiplex real-time PCR method for the quantification of beef and pork fractions in minced meat. *Food chemistry,* **169**, 305-313.

[1] Murray M. G., Thompson W. F. (1980): Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research,* **8**, 4321-4325.

[1] ČSN EN ISO 21571 (2007): Potraviny - Metody pro detekci geneticky modifikovaných organismů a odvozených produktů - Extrakce nukleové kyseliny, Český normalizační institut, Praha, Česká republika, 44 stran.

[1]Floren C., Wiedemann I., Brenig B., Schutz E., Beck J. (2015): Species identification and quantification in meat and meat products using droplet digital PCR (ddPCR). *Food Chemistry,* **173,** 1054-1058.

R 23

SPECIACE SELENU V MIKROSKOPICKÝCH ŘASÁCH OBOHACENÝCH SELENEM

Revenco D., Vomáčková M., Jírů M., Stránská M., Koplík R.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Selen je esenciální stopový prvek, jehož příjem v naší stravě je většinou nedostatečný. Většina sloučenin selenu je značně toxická, ale při nízkých koncentracích vykazují sloučeniny selenu protektivní účinky vůči působení toxických kovů a dále anti-oxidační, anti-mutagenní a anti-karcinogenní účinky. Proto byl zkoumán vliv nedostatku selenu na zdraví populace a v některých zemích (Finsko) se přistoupilo k obohacování zemědělských půd selenem s cílem zvýšit obsah selenu v plodinách. Výsledkem byl příjem adekvátního množství Se. Doporučený denní příjem selenu je stanoven na 55 µg/den a jeho dávky lze zvýšit používáním potravních doplňků.

Běžné organické sloučeniny selenu přítomné v různých organismech jsou aminokyseliny selenocystein (Sec) a selenomethionin (SeMet). Bílkoviny, které obsahují Sec v pozicích vymezených genetickým kódem, se nazývají selenoproteiny. Selenoproteiny se běžně vyskytují u mnoha organismů. Biologická využitelnost selenu závisí na jeho chemické formě, která má určitý vliv i na jeho distribuci v organismu a jeho vylučování. Nejlépe využitelnou formou selenu je pro člověka selenomethionin (využití z více jak 90 %).

Mikroorganismy, včetně mikroskopických řas, mohou inkorporovat do svých buněk značná množství selenu z růstového media a transformovat anorganické sloučeniny Se na organické.

V této práci jsme se zaměřili na stanovení Se v biomase několika druhů zelených jednobuněčných řas a na speciační analýzu selenu metodou LC-ICP-MS v řase *Chlorella* obohacené Se. Potvrdili jsme, že k biotransformaci seleničitanu na seleno-aminokyseliny během kultivace skutečně dochází a hlavní rozpustnou sloučeninou Se v obohacené řase *Chlorella* je selenomethionin.

R 24

VLASTNOSTI MÁLO ZNÁMÝCH BYLIN Z ČESKÝCH FARMÁŘSKÝCH TRHŮ

Pudil F.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Souhrn
V posledních letech se v zahradnictvích a na farmářských trzích objevují pozoruhodné byliny z nejrůznějších končin světa. Někdy ani nemají české systematické názvy a jsou charakterizovány buď latinským názvem, a nebo biologickým či senzorickým efektem. Mezi takové patří „rostlina nesmrtelnosti“, „houbová rostlina“, „kočičí ocásek“, „rýmovník“, „anginovník“ nebo poněkud známější „maggi rostlina“. V práci jsou metodou GC-MS s dávkováním SPME analyzovány těkavé látky vybraných bylin, jsou připojeny další dostupné informace o rostlinách a jejich složení. Přestože některé informace jsou nadnesené, a složení mnohdy dosti různorodé, lze analyzované byliny považovat za obohacení našeho jídelníčku jak z hlediska senzorických vlastností, tak i z hlediska výživového, a to zejména při využití sušených bylin v podobě čajů nebo čerstvých bylin v podobě salátů.

Materiál

Analyzované byliny byly zakoupeny v Zahranictví Krulichovi, Na Petynce, Praha 6 – Břevnov.

Metody

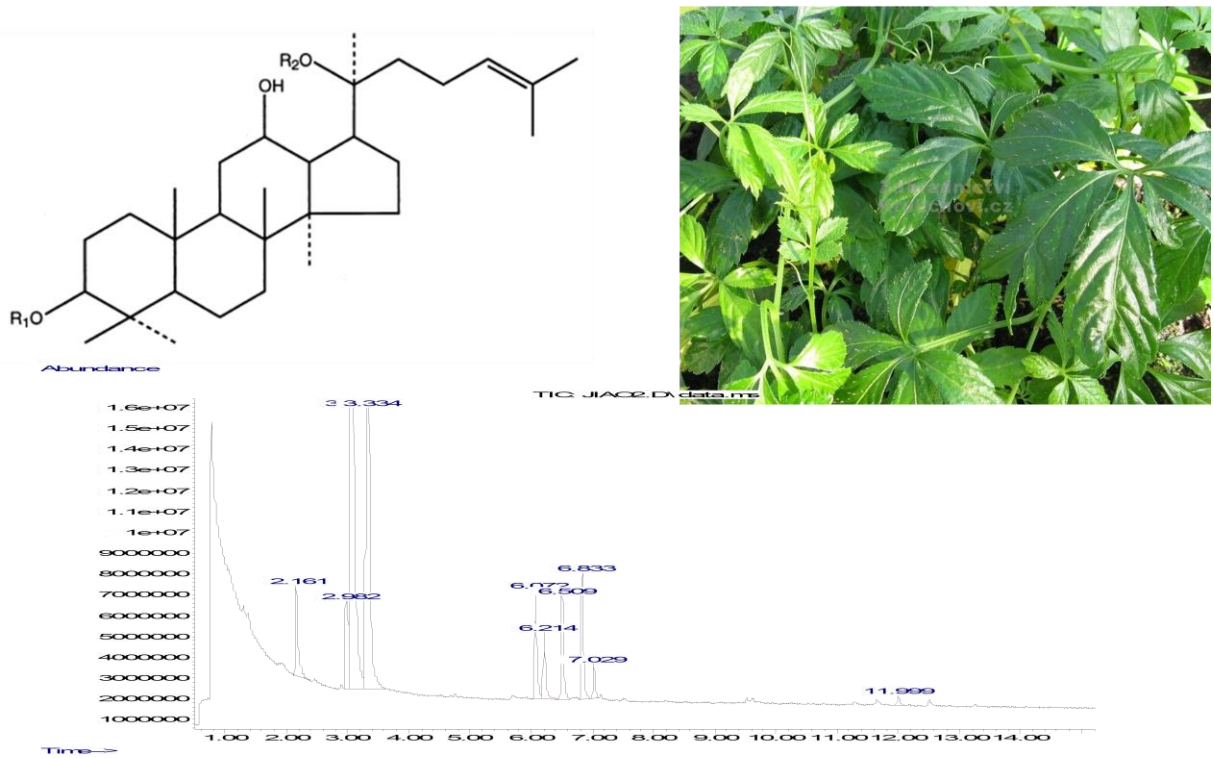
Pro separaci těkavých látek byla využita kolona SAC-5 30m x 0,25mm s tloušťkou filmu 0,25 µm (Supelco, USA). Těkavé látky byly izolovány technikou SPME na vlákno 50/30µm DVB/Carboxen TM/PDMS StableFlex TM (Supelco, USA) při laboratorní teplotě po dobu 1hod. Desorpce byla realizována v režimu s děličem 1:10 při teplotě nástřiku 230 ^{o}C. Teplota kolony byla programována od 50 ^{o}C 3 min izotermně a dále rychlostí 5 ^{o}C/min do 220 ^{o}C. Hmotnostní spektra byla měřena v modu TIC při 70eV. Teplota zdroje byla 230 ^{o}C a teplota rozhraní 150 ^{o}C. Pro identifikaci byla využita elektronická knihovna NIST 2.0 (Agilent Technologies, USA).

Výsledky a diskuse

Přestože se analýzou těkavých látek sorbovaných na vlákno nezíská obsah jednotlivých látek, tak relativní zastoupení těkavých složek v parní fázi získané SPME GC-MS analýzou reprezentuje pach byliny lépe než kvantitativní analýza extraktu nebo destilátu z materiálu. Za těchto podmínek jsou chemické změny složení minimální a omezují se převážně na těkavé produkty enzymové degradace lipidů nebo na hydrolytické produkty z narušených tkání. V obr.1 až 8 jsou shrnuty informace z několika zdrojů. Samotná obrazová dokumentace byla převzata z Wikipedie, kde lze najít mnoho dalších doplňujících údajů o analyzovaných rostlinách. Informace o složení významných netěkavých látek jsou citovány z dalších odborných publikací a jsou doplněny chromatogramem z GC-MS těkavých látek izolovaných z čerstvých rostlin za výše uvedených podmínek. Kromě toho je aroma rostliny charakterizováno subjektivním slovním popisem.
Ve všech analyzovaných materiálech se v nějaké míře uplatňovaly známé produkty vznikající degradací nenasycených mastných kyselin účinkem enzymu lipoxygenázy. V bylinách se slabým aromatem mezi těkavými látkami převažovaly. V bylinách s vlastním intenzívním aromatem se tato skupina látek prakticky neuplatňovala.

Rostlina nesmrtelnosti

Gynostemma pentaphyllum Jiaogulan, Čína



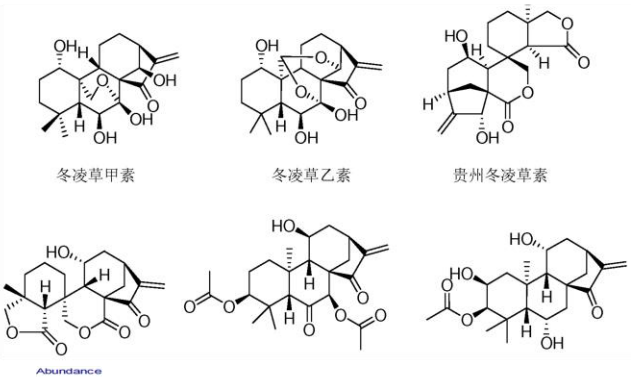
Obr.1: SPME GC-MS analýza a vlastnosti byliny *Gynostemma pentaphyllum.*

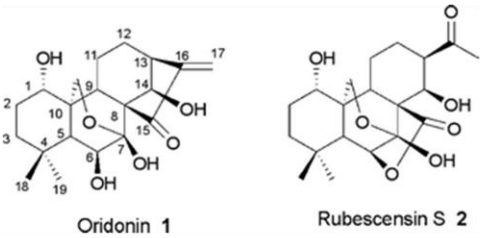
Bylina měla slabé a málo výrazné spíše nepříjemné zeleninové aroma. V jeho složení převládaly hexenaly, hexenylalkoholy a 1-hexanol společně s jejich acetáty. Dále byly nalezeny osmiuhlíkaté „houbové“ komponenty 1-okten-3-ol, 3-oktanon a 3-oktanol, které zřejmě způsobovaly zatuchlý nebo plísňový charakter aroma.

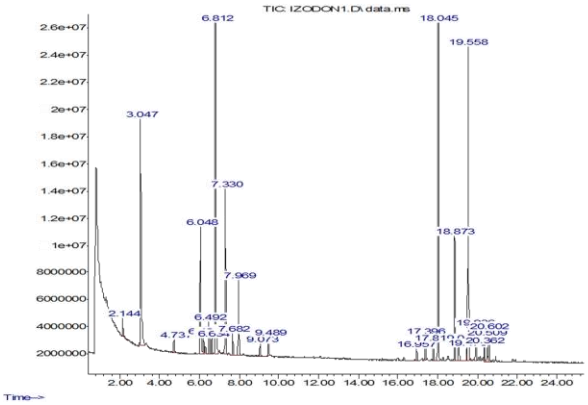
Další informace jsou na https://cs.wikipedia.org/wiki/Gynostema_p%C4%9Btilist%C3%A1

Isodon

Isodon rubescens Čína EP 2805955 A1







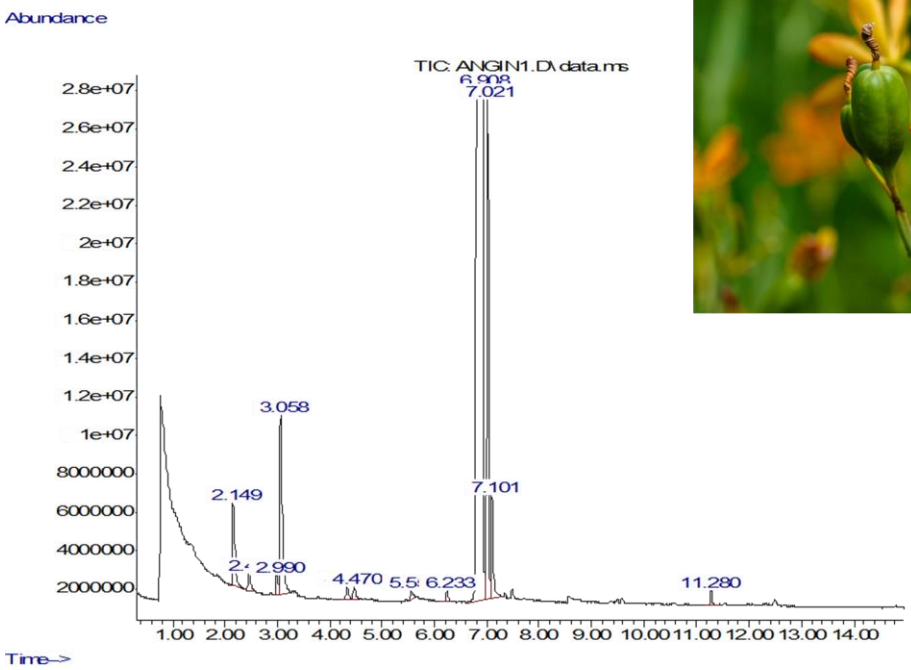
Obr.2: SPME GC-MS analýza a vlastnosti byliny *Isodon rubescens.*

Čerstvá rostlina se vyznačovala jen slabým zeleninově-terpenickým aromatem. Mezi těkavějšími složkami převažoval 3-hexen-1-olacetát, 1-okten-3-ol, 3-oktanon , limonen, linalool a další monoterpenické uhlovodíky. Mezi méně těkavými komponentami převažoval karyofylen, seskviterpenické uhlovodíky, z nichž několik bylo naftalénového typu. Aromatické látky květů nebyly analyzovány.

Další informace jsou na https://en.wikipedia.org/wiki/Isodon
http://www.zahradnictvikrulichovi.cz/prodej/Isodon-rubescens---isodon--Dong-Ling-Cao

Anginovník čínský

Belamcanda chinensis, Iris domestica



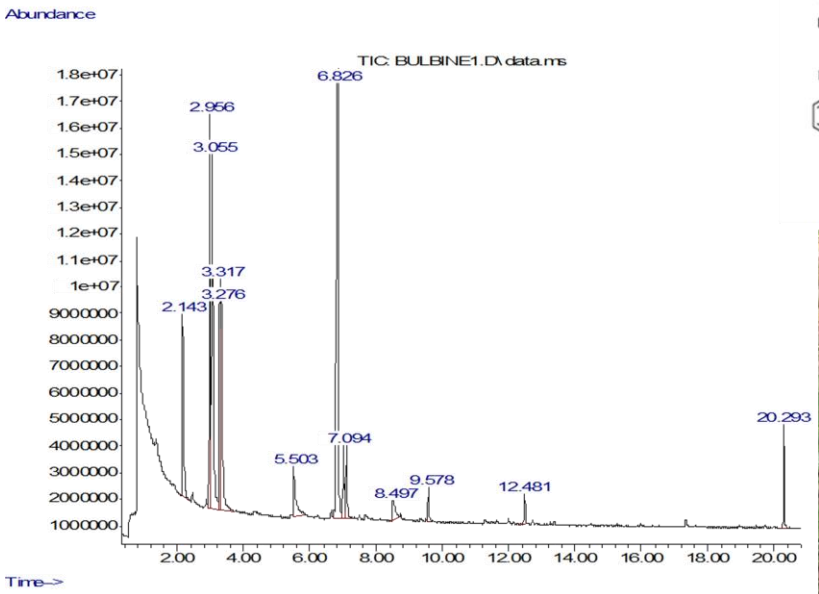
Obr.3: SPME GC-MS analýza a vlastnosti rostliny *Belacanda chinensis.*

Málo intenzivní a nevýrazné zeleninové aroma bylo zřejmě způsobeno degradačními produkty nenasycených mastných kyselin. Převažoval 3-hexen-1-olacetát , 1-hexylacetát a 2-hexenyl-1-olacetát, 3-hexen-1-ol a 3-hexenal. Aromatické látky květů nebyly analyzovány.

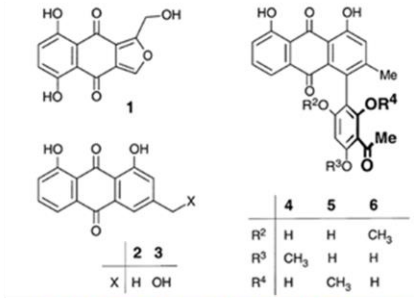
Další informace jsou na http://www.zahradnictvikruh.cz/belamcanda-anginovnik-ean0033-skup05.php
http://www.zahradaapriroda.cz/anginovnik-cinsky-pestovani-a-vyuziti/

Kočičí ocásek

Bulbine frutescens Jižní Afrika



Knipholone



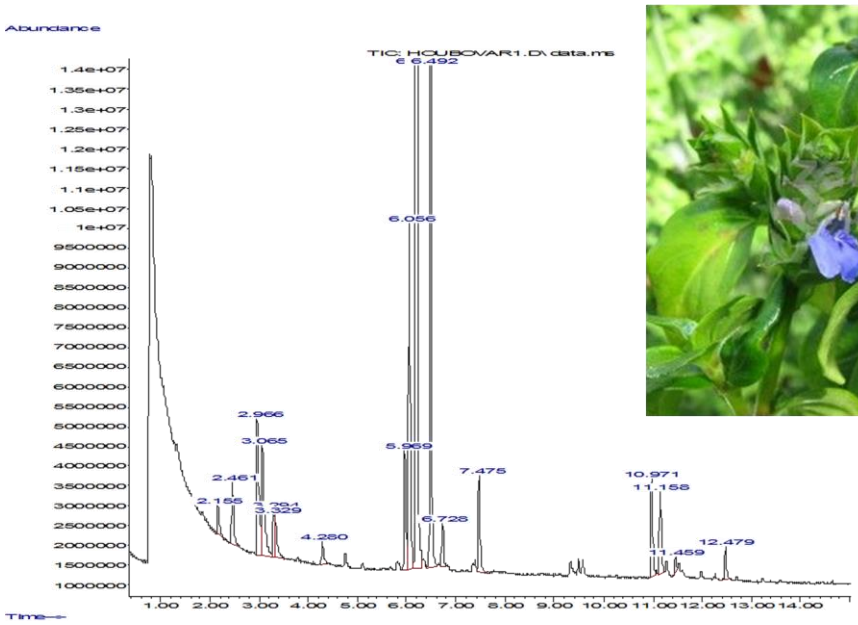
Obr.4: SPME GC-MS analýza a vlastnosti rostliny *Bulbine frutescens.*

Rostlina se vyznačovala málo výrazným a slabým zeleninovým aromatem. V jeho složení převládaly hexenaly, hexenylalkoholy a 1-hexanol společně s jejich acetáty. V menší míře byly detegovány nonanal a dekanal. Z méně těkavých látek se objevil pouze alfa-farnesen. Aromatické látky květů nebyly analyzovány.

Další informace jsou na http://www.zivebylinky.cz/cz-detail-794508-kocici-ocasek-medicus-jagavka-bulbine-frutescens.html
http://www.zahradnictvikrulichovi.cz/prodej/Bulbine-frutescens---Medicus-----bulbine--bulbinella--burn-jelly-plant

Houbová rostlina, žampionová bylina

Rungia klosii Papua – Nová Guinea



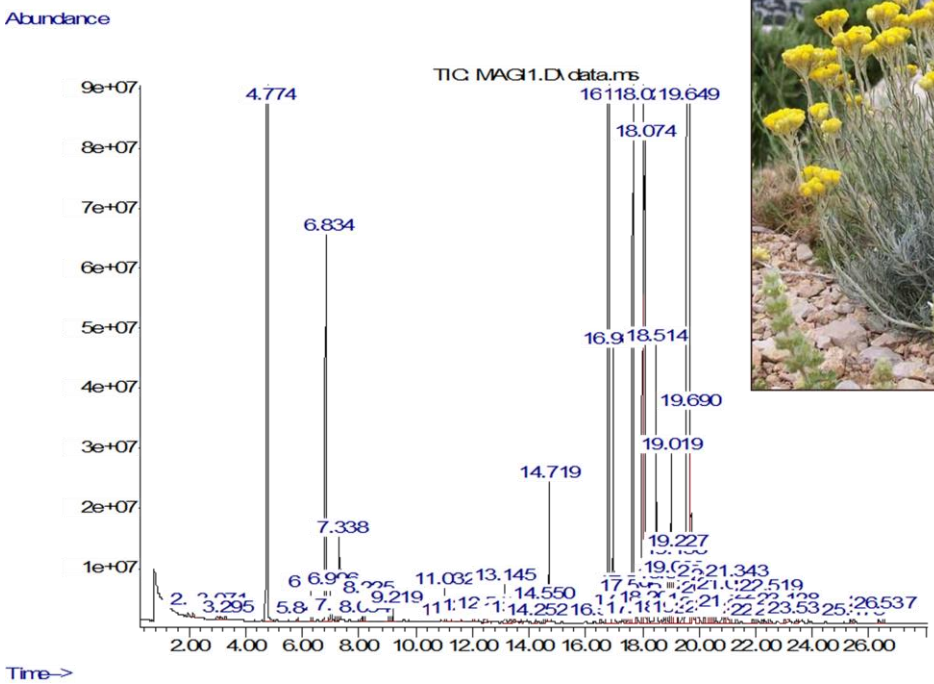
Obr.5: SPME GC-MS analýza a vlastnosti byliny *Rungia klosii.*

Aroma byliny zejména při narušení tkáně se vyznačovalo houbovým a olejově-zeleninovým charakterem. Složení těkavých látek tomu dobře odpovídalo. Vedle běžných šestiuhlíkatých složek travního aroma převažovaly „houbové“ komponenty 1-okten-3-ol, 1-okten-3-on, 3-oktanon, 3-oktanol a šestiuhlíkaté nenasycené alkoholy a jejich estery. V menší míře byly zastoupeny také nonanal, dekanal a nonenal, nonadienaly a linalol. Aromatické látky květů nebyly analyzovány.

Další informace jsou na http://www.zahradnictvikrulichovi.cz/prodej/Rungia-klosii----tzv--houbova-bylinka

Maggi rostlina, smil vlašský

Helichrysum italicum Turecko, aj.,



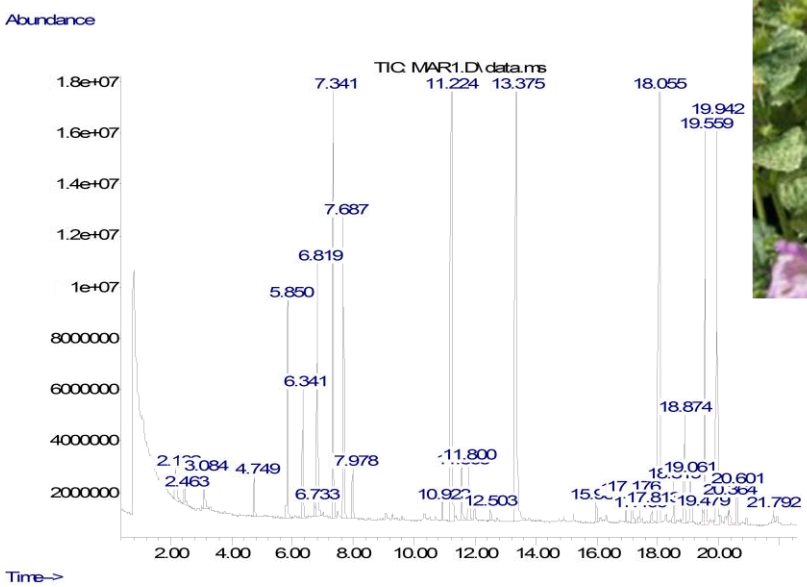
Obr.6: SPME GC-MS analýza a vlastnosti rostliny *Helichrysum italicum.*

Velmi intenzívní a pronikavé aroma charakteristické pro maggi je zřejmě způsobeno nenasycenými estery, které byly mezi množstvím dalších těkavých látek také identifikovány. Zejména to byly estery 3-methyl-2-butenové kyseliny. Byly detegovány také hexenylestery této kyseliny. Ve složení vedle monoterpenických uhlovodiků spíše převažovaly seskviterpeny azulenového typu.

Další informace jsou na https://en.wikipedia.org/wiki/Helichrysum_italicum

Marulka velkokvětá

Calamintha grandiflora Jižní Evropa



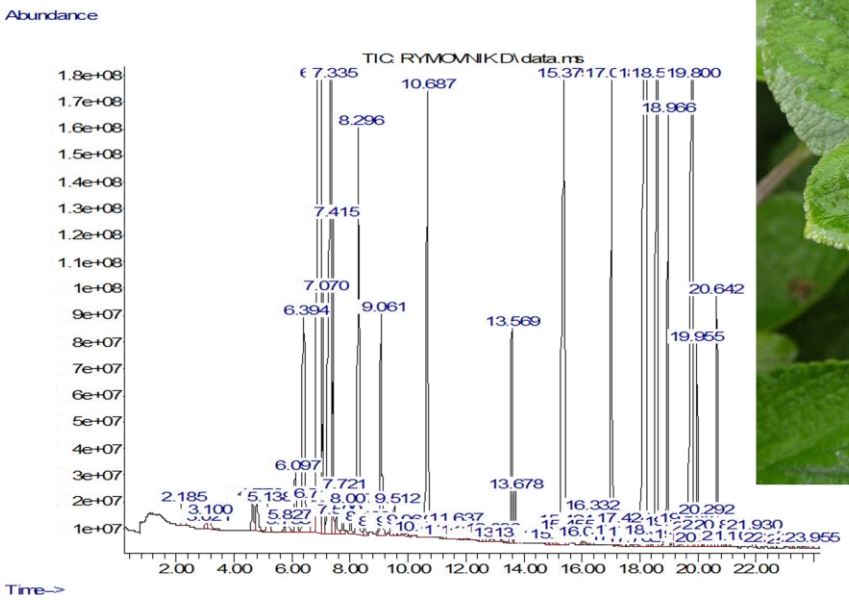
Obr.7: SPME GC-MS analýza a vlastnosti byliny *Calamintha grandiflora.*

Aroma byliny bylo podobné mátě, i když se vyznačovalo menší intenzitou a poněkud drsnějším tónem. Ve složení spíše převažovaly monoterpenické a seskviterpenické uhlovodíky a jejich kyslíkaté deriváty. Charakter aroma zřejmě určoval hojně zastoupený menthon a menthenon.

Další informace jsou na http://www.zahradnictvikrulichovi.cz/prodej/Calamintha-grandiflora---Variegata-----marulka-velkokveta?phone=1
https://cs.wikipedia.org/wiki/Marulka

Rýmovník

Plectrantus argenatus Jižní Austrálie



Obr.8: SPME GC-MS analýza a vlastnosti byliny *Plectrantus argenatus.*

Rostlina se vyznačuje intenzívním aromatem připomínající mátu s mírným kafrovým tónem. Tomu odpovídá i složení těkavých látek, kde se kromě mnoha běžných monoterpenických složek nachází i kafr (2-bornanon) a thymol, a bohatá skupina seskviterpenických uhlovodíků a jejich kyslíkatých derivátů. Intenzívní a dlouho přetrvávající aroma v dužnatých listech dává rýmovníku dobré předpoklady pro využití v podobě čaje nebo čajových směsí. Kromě toho se jistě uplatní i jako poměrně rychle rostoucí příjemná poková rostlina.
Další informace jsou na https://cs.wikipedia.org/wiki/Molice_(rostlina)
http://www.zahrada-centrum.cz/clanky/nahled/154-na-rymu-je-rymovnik
https://en.wikipedia.org/wiki/Plectranthus_argentatus
https://en.wikipedia.org/wiki/Plectranthus_amboinicus

Závěry
Není pochyb o tom, že „nové“ rostliny a byliny nabízené v zahradnictvích a na farmářských trzích jsou užitečným zpestřením na trhu čerstvých rostlinných produktů a že najdou nebo už nacházejí svoje místo i v české kuchyni nebo domácí medicíně.

Použité zdroje
http://www.zahradnictvikrulichovi.cz/
https://en.wikipedia.org/

R 25

VÝSKYT TRANS MASTNÝCH KYSELIN V POTRAVINÁCH NA ČESKÉM TRHU

Doležal M.[1], Matějková K. [1], Ilko V. [1], Brát J.[2], Dostálová J.[1]
1-Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, 2-Vím, co jím a piju, Praha

Úvod

Trans-nenasycené mastné kyseliny (TFA) jsou mastné kyseliny, které mají alespoň jednu dvojnou vazbu v konfiguraci *trans*. Vznikají buď bakteriální transformací nenasycených mastných kyselin v bachoru přežvýkavců pomocí bakteriálních enzymů nebo průmyslovou částečnou hydrogenací tuků nebo zahříváním nenasycených tuků na vysoké teploty. Průmyslová katalytická hydrogenace je prováděna pro zlepšení technologických vlastností nenasycených tuků, jako je vyšší stabilita vůči oxidaci nebo tuhá konzistence. U ztužování lze z hlediska konverze dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin na nasycené mastné kyseliny rozlišovat:

1) parciální katalytickou hydrogenaci, kde stupeň konverze je 30–40 %; parciálně ztužené tuky mohou obsahovat až 50–60 % *trans*-izomerů mastných kyselin

2) totální hydrogenaci – stupeň konverze je cca 99 %; plně ztužené tuky o vysokém bodu tání (65–75 °C) obsahují pouze nasycené mastné kyseliny (obsah zbytkových MUFA je cca 1–1,5 % a reziduální obsah *trans*-kyselin je 0,7–1,0 %).

Hlavním představitelem mastných kyselin vzniklých průmyslovou hydrogenací je elaidová kyselina (18:1, *trans*-9) z původní olejové kyseliny a pro tuk přežvýkavců je typická *trans*-nenasycená mastná kyselina vakcenová (18:1 *trans*-11). Představuje 50 až 80 % všech *trans* izomerů a je odvozena od olejové kyseliny, zbytek představuje konjugovaná linolová kyselina (CLA), respektive směs izomerů linolové kyseliny. Zástupcem této skupiny je například rumenová kyselina (18:2 cis-9, *trans*-11) a další izomery [1].

V roce 2010 publikoval Evropský úřad pro bezpečnost potravin zprávu [2] týkající se výživové hodnoty tuků, včetně *trans*-nenasycených mastných kyselin, ve které vyjádřil jejich negativní vliv na hladinu cholesterolu, kardiovaskulární onemocnění, krevní tlak, diabetes druhého typu nebo alergie. A doporučil snižování jejich příjmu. Negativní působení na hladinu cholesterolu spočívá ve zvyšování hodnoty LDL-cholesterolu a naopak snižování HDL-cholesterolu. Celkově dochází ke zvyšování poměru mezi celkovou hodnotou cholesterolu a jeho HDL složkou a ke zvýšení hodnoty triacylglycerolů v krvi. Negativní působení TFA dále spočívá v jejich prozánětlivém účinku. Je pravděpodobné, že TFA zhoršuje inzulinovou rezistenci, zvláště u predisponovaných jedinců a je nutné provést další studie ohledně vlivu TFA na zvyšování tělesné hmotnosti a výskytu diabetu [3].

Experimentální část

Výrobky byly zakoupeny v české v maloobchodní tržní síti a vybrány tak, aby byly zastoupeny různé druhy a různí výrobci. Mastné kyseliny byly stanoveny metodou plynové chromatografie na přístroji Agilent 6890N (Agilent Technologies, USA) s plamenově-ionizačním detektorem a kapilární kolonou Supelco SP 2560 (100 m x 0,25 mm x 0,2 µm, Supelco, USA) ve formě methylesterů mastných kyselin. Obsah mastných kyselin byl vyhodnocen jako procentuální zastoupení plochy píku daného methylesteru mastné kyseliny v chromatogramu k celkové ploše všech methylesterů.

Výsledky

V monitoringu kvality provedeném u 16 vzorků slunečnicových olejů bylo 14 vzorků s tradičním složením mastných kyselin, vzorek č.15 byl z odrůdy s vysokým obsahem olejové kyseliny (high oleic) a vzorek č.16 směsí obou. *Trans*-nenasycené mastné kyseliny, které vznikají v malé míře při rafinaci olejů, tvořily nutričně nevýznamných 0,2-1,2 %, u olejů panenských (vzorky č. 13, 14 a 15) byla stanovena jen stopová množství (tabulka I).

Tab. 1 Zastoupení mastných kyselin v procentech z celkových mastných kyselin

	1	2	3	4	5	6	7	8
Nasycené MK celkem	10,8	10,7	11,6	11,5	11,4	11,5	11,0	11,2
Olejová kyselina	23,6	25,5	29,3	22,6	29,0	26,9	23,9	28,0
Linolová kyselina	64,4	62,5	57,3	63,5	58,1	60,2	63,9	59,4
***Trans* isomery MK celkem**	0,2	0,3	0,5	1,2	0,4	0,4	0,2	0,3

	9	10	11	12	13	14	15	16
Nasycené MK celkem	11,1	11,3	11,4	11,5	12,1	11,2	8,3	10,2
Olejová kyselina	28,2	27,5	28,8	23,7	23,7	25,8	82,1	41,4
Linolová kyselina	59,2	59,4	58,2	63,3	63,0	61,5	8,5	46,6
***Trans* isomery MK celkem**	0,3	0,6	0,5	0,4	0,1	0,1	0,0	0,2

S jedlými tuky se člověk v dnešní době setkává téměř denně, proto je ze zdravotního hlediska velice důležitá jejich kvalita, která se odvíjí od složení mastných kyselin. Další monitoring popisuje a hodnotí složení mastných kyselin 53 vzorků, z toho 12 vzorků másel, 17 rostlinných roztíratelných tuků, 8 roztíratelných směsných tuků, 9 rostlinných roztíratelných tuků na pečení a 7 jedlých 100 % rostlinných tuků. Obsah *trans* mastných kyselin v rostlinných roztíratelných tucích nepřesahoval 1 %, s výjimkou vzorků Stella Vita (1,01 %) a Lando (1,21 %). Másla obsahovala 2-3 % *trans* mastných kyselin, a rostlinné směsné tuky 0,6-2,2 %. Rostlinné roztíratelné tuky vhodné na pečení a 100% tuky obsahovaly *trans* mastné kyseliny do 1 %, výjimku tvořilo vzorky TESCO Value (3,2 %), Palma Helia na krémy (4,3), Palma Palmarin na cesto (4,8 %) a Palma Cera na polevy (4,3 %), ve kterých byl deklarován částečně ztužený tuk. Složení mastných kyselin roztíratelných jedlých tuků se neustále zlepšuje, zejména z pohledu obsahu *trans* mastných kyselin, jejichž obsah je v současných výrobcích výrazně nižší než býval. V roce 1996 publikovali Schwarz a Novák [4] výsledky stanovení složení mastných kyselin tukových výrobků, které byly na našem trhu začátkem devadesátých let. Obsah *trans* mastných kyselin v margarínech na pečení vyráběných v ČR se tehdy pohyboval v rozmezí 27,8 – 42,2 %, v zahraničních výrobcích od stopových množství po 39 % (ale pouze čtyři výrobky ze 14 měly obsah *trans* mastných kyselin do 20 %). V pomazánkových margarínech vyráběných v ČR byl obsah *trans* mastných kyselin v mezích 16,3 – 29,6 % (pouze jeden výrobek obsahoval pouze stopy *trans* mastných kyselin), v zahraničních výrobcích od stopových množství po 39,9 %.

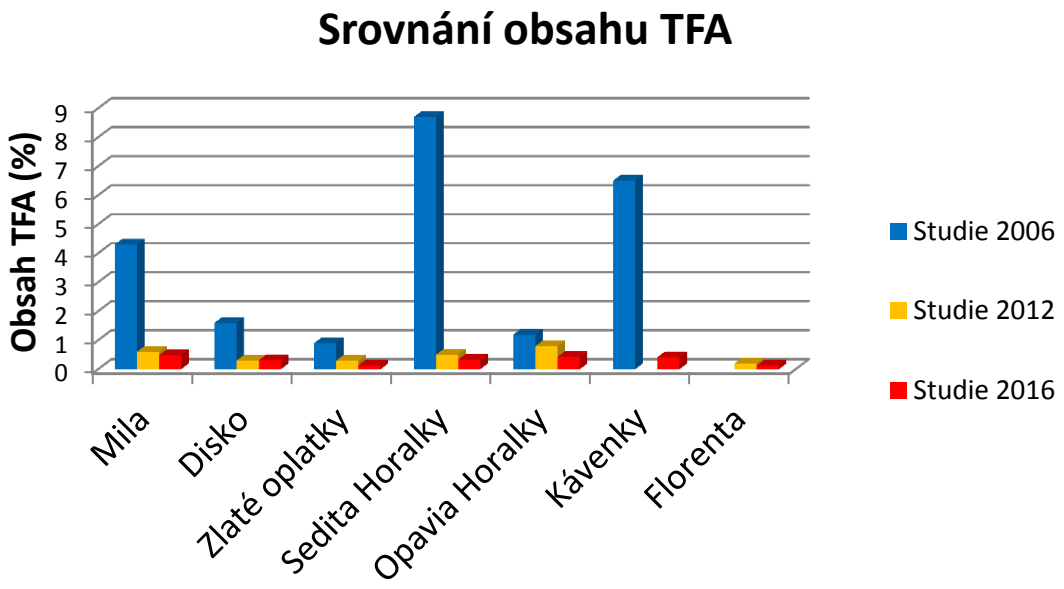
Cílem dalšího monitoringu bylo zhodnocení obsahu tuku a složení mastných kyselin v potravinářských výrobcích deklarujících obsah částečně a plně ztužených tuků, zejména v balených cukrářských a pekařských výrobcích. Obsah *trans* mastných kyselin v 30 vzorcích se pohyboval v rozmezí od 0,09 % do 28,72 %. U většiny vzorků se tato hodnota pohybovala v rozmezí 0,09 – 4,94 %. Výjimkou bylo sedm vzorků, které jsou uvedeny v tabulce 2 s obsahem TFA nad 5 %. Mezní hodnota obsahu 5 % TFA byla vzata z důvodu uvedení použití mléčného tuku v některých výrobcích. Mléčný tuk může přirozeně obsahovat 2–5 % *trans* mastných kyselin. Pro výpočet denního příjmu TFA ve 100 g výrobku bylo použito maximální tolerované hodnoty 1 % z celkového příjmu energie, kterou stanovila Společnost pro výživu a WHO a která činí přibližně 2,5 g.

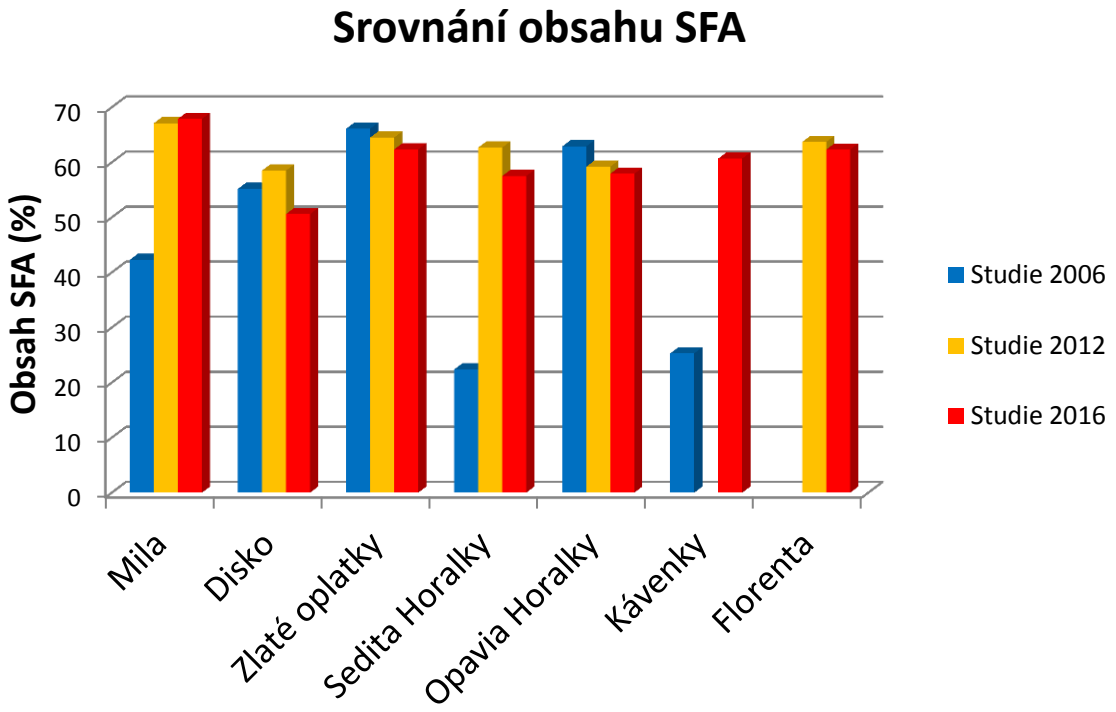
Tab 2 Obsah *trans* mastných kyselin u vybraných vzorků s přepočtem na denní příjem ve 100 g výrobku

Číslo vzorku	Obsah TFA (%)	Obsah tuku ve 100 g	TFA ve 100 g	Denní tolerovatelný příjem (%)
	11,04	21,6	2,38	95,4
Perník - Velikonoční vejce	5,16	5,2	0,27	10,7
Rozinková bábovka	6,93	23,4	1,62	64,9
Linecké rohlíčky polomáčené s ovocnou náplní	6,35	28,0	1,78	71,1
Forest Fruit sponge cake	28,72	3,7	1,06	42,5
Marokánky	22,20	16,3	3,62	144,7
Listové těsto – chlazené	6,36	18,3	1,16	46,6

Trvanlivé pečivo, další skupina potravin s možným výskytem TFA, bylo z hlediska složení mastných kyselin tuku analyzováno již v roce 2006 a 2012 [5]. Srovnání obsahu TFA a nasycených mastných kyselin u stejných výrobků z roku 2006, 2012 a z letošního roku je graficky znázorněno níže (Obrázek 1 a 2). V průběhu let 2006–2016 došlo k výraznému poklesu obsahu *trans*-nenasycených mastných kyselin. Příčinou poklesu množství TFA je podobně jako v cukrářských a pekařských výrobcích nahrazení částečně ztužených tuků neztuženými tuky tropických palem (především palmovým, palmojádrovým a kokosovým).

Obr. 1 Srovnání obsahu TFA v trvanlivém pečivu z let 2006, 2012 a 2016





Obr. 2 Srovnání obsahu SFA v trvanlivém pečivu z let 2006, 2012 a 2016

Poslední monitoring kvality potravinářských výrobků z pohledu obsahu tuku a složení mastných kyselin shrnuje výsledky získané rozborem 75 jednoporcových cukrářských výrobků. Ty jsou definovány jako výrobky, jejichž základem jsou pekařské výrobky, které jsou dohotoveny pomocí náplní, polev, ozdob a kusového ovoce, nebo též výrobky, jejichž základem je pevná hmota vytvořená pomocí želírovacích látek bez pečení a dohotovená zejména pomocí náplní, polev nebo kusového ovoce. Výsledky ukázaly velký rozdíl v kvantitě i kvalitě tukové složky vzorků. Celkové množství tuku se pohybovalo v širokém rozmezí 6,7 – 47 % hm. I když výrobci obecně ustupují od používání částečně hydrogenovaných rostlinných tuků, u 16 vzorků překročil obsah *trans*-nenasycených mastných kyselin 5 %, přičemž nejvíce bylo zjištěno 13,5 %. U čtyř výrobků ze 75 monitorovaných by konzumací jedné porce byl překročen tolerovaný denní příjem *trans*-nenasycených mastných kyselin.

Závěr

Porovnáním výsledků v této práci se staršími studiemi je možné pozorovat výrazný pokles obsahu *trans*-nenasycených mastných kyselin v potravinách na trhu v České republice. Výrobci reformulují výrobní receptury a nahrazují při nich částečně ztužené rostlinné tuky buď za neztužené nebo naopak plně ztužené tuky a tím snižují obsah *trans*-nenasycených mastných kyselin. Jako náhradu většinou používají palmový olej, palmojádrový olej a kokosový tuk, což se většinou projeví zvýšením obsahu nasycených mastných kyselin.

Reference

[1] Ganguly, R. The toxicity of dietary trans fats. Food Chem. Toxicol.,78, 170-176 (2015)
[2] Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* [Online] **2010,** http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1461.htm (30.5.2016).
[3] Mozaffarian, D.; et al. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *European Journal of Clinical Nutrition* [Online] **2009**, *63*, 5-21. http://www.nature.com/ejcn/journal/v63/n2s/full/1602973a.html#bib61 (accessed April 15, 2016).

[4] Schwarz W., Novák B.: Trans-kyseliny v margarínech, Výživa a potraviny, 51 (5), 137-138 (1996)
[5] Doležal M., Doublier C., Švehlová A., Dostálová J.: Obsah tuku a složení mastných kyselin tuku trvanlivého pečiva. Sborník příspěvků XLII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin, Skalský Dvůr, 82-85 (2012)

.

R 26

SLOŽENÍ TUKU VYBRANÝCH DEHYDRATOVANÝCH VÝROBKŮ

Matějková K., Ondřejková Z., Doležal M., Dostálová J.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Úvod

V České republice je konzumováno přibližně dvojnásobné množství nasycených mastných kyselin (SFA) než se doporučuje (10 % z celkového energetického příjmu). Vedle nasycených mastných kyselin mají negativní účinky na lidské zdraví (především na kardiovaskulární onemocnění a diabetes typu II) v případě dlouhodobé a nadměrné konzumace i *trans*-nenasycené mastné kyseliny (TFA). Produkce a použití částečně ztužených rostlinných tuků, které jsou jejich významným zdrojem, se sice v posledních letech silně snižuje, nicméně stále se lze na trhu setkat s výrobky, do kterých jsou aplikovány, např. v některých produktech jemného a trvanlivého pečiva, náhražkách čokolády nebo polevách. Limit tolerovaného příjmu je nízký (max. 1% z celkového energetického příjmu), proto relativně malé množství potraviny může v případech pravidelné konzumace představovat trvalé překračování jejich tolerovaného příjmu. Je také prokázáno, že SFA s krátkým řetězcem (do 10 uhlíků) anebo dlouhým řetězcem (nad 18 uhlíků) nemají vliv na zvyšování hladiny cholesterolu a tudíž ani nezvyšují riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Ideální poměr nasycených, monoenových a polyenových MK je < 1 : 1,4 : > 0,6 a poměr MK řady n-6/n-3 by měl být maximálně 5:1. Cílem této práce je stanovit zastoupení mastných kyselin v tuku vybraných dehydratovaných potravin a odhadnout možné riziko z jejich konzumace. Pozornost je zaměřena především na SFA a TFA.

Materiál a metoda

Bylo analyzováno 8 sušených vzorků a 4 tekuté vzorky sójových nápojů, 9 dehydratovaných bujónů a 3 tekuté, 15 instantních „čínských“ polévek, 18 instantních polévek a 5 instantních náhrad smetany do kávy a čaje.

Chemikálie: Petrolether 40-65 °C G.R. (Lach-Ner, s.r.o., ČR), BF_3 v MeOH, Boron trifluoride-methanol solution, (Sigma-Aldrich, Švýcarsko), diethylether p. a. (Lach-Ner s.r.o., Neratovice CZ), methanol p. a. (Penta, Chrudim, CZ), ethanol p. a. (Penta, Chrudim, CZ), hydroxid sodný p. a. (Penta, Chrudim, CZ), amoniak 25 % p. a. (Lach-Ner s.r.o., Neratovice CZ), n- hexan (Merck, Německo), síran sodný bezvodý, p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR), šťavelan draselný monohydrát p. a. (Penta, Chrudim, CZ), standardy mastných kyselin, Supelco 37 Component FAME mix (Supelco, USA).

Extrakce tuku v sójových nápojích: K extrakci tuku byl použit nasycený roztok šťavelanu draselného, ethanol a směs hexan-diethylether. Extrakce byla opakována dvakrát, extrakt byl promyt vodou a zfiltrován přes nálevku s malým množstvím bezvodého síranu sodného. Získaný extrakt byl odpařen na rotační vakuové odparce při teplotě do 40 °C do sucha.

Extrakce tuku v instantních a čínských polévkách a bujónech: Tuk byl extrahován po přídavku petroletheru na přístroji Soxtec při teplotě 135 °C.

Extrakce tuku v instantních náhradách smetany: Tuk z těchto výrobků byl extrahován metodou dle Röseho- Gottlieba. K extrakci byl použit amoniak o koncentraci 25 %, ethanol a diethylether. Extrakce byla opakována dvakrát. Po oddělení fází byla etherová fáze převedena do destilační baňky a na vakuové rotační odparce bylo odpařeno rozpouštědlo při teplotě lázně 50 °C.

Stanovení složení mastných kyselin: Výše uvedenými postupy byl získaný tuk nejprve cestou transesterifikace převeden na těkavé methylestery. Takto získané vzorky byly následně analyzovány pomocí plynové chromatografie s plamenově-ionizačním detektorem (GC/FID).

Příprava methylesterů mastných kyselin: Do 50 ml varné baňky bylo naváženo 0,5 g tuku a přidáno 5 ml methanolu, 1 ml hydroxidu sodného. Směs byla vařena po dobu 15 minut pod zpětným chladičem. Následně bylo přidáno 0,5 ml BF_3 a směs byla vařena 7 minut. Po ochlazení bylo ke vzorku přidáno 5 ml hexanu a 20 ml nasyceného roztoku chloridu sodného. Vzniklá směs byla 45 vteřin třepána. Poté byla baňka doplněna roztokem nasyceného chloridu sodného po hrdlo a po oddělení vrstev byla horní vrstva převedena do vialky s malým množstvím bezvodého síranu sodného.
Stanovení složení mastných kyselin metodou GC/FID: GC analýza byla realizována po nastříknutí vzorku ve formě methylesterů mastných kyselin na přístroji Agilent Technologies 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) s plamenově-ionizačním detektorem a kapilární kolonou Supelco SP 2560 (100 m x 0,25 mm x 0,2 µm, Supelco, Bellefonte, USA). Teplota nástřiku 220 °C, teplotní program 175-220 °C (4 °C/min), teplota detektoru 240 °C, doba analýzy 110 min, nástřik 1 µl, split 75:1, nosný plyn hellium (0,8 ml/min)

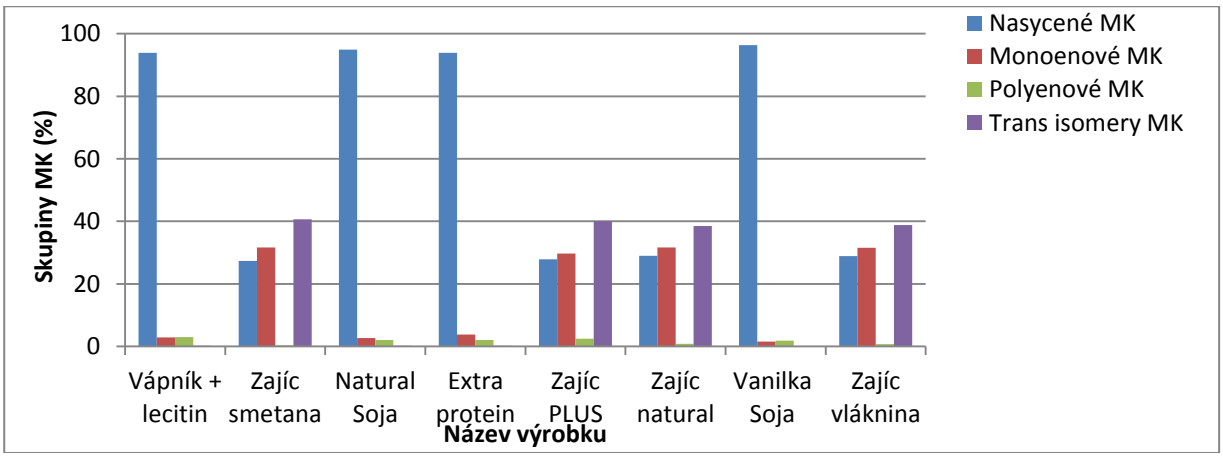
Výsledky byly získány metodou vnitřní normalizace. Pro identifikaci jednotlivých mastných kyselin byl použit standard Supelco 37 Component FAME mix. Obsah mastných kyselin byl vyhodnocen jako procentuální zastoupení plochy píku daného methylesteru mastné kyseliny v chromatogramu k celkové ploše všech methylesterů.

Výsledky a diskuse

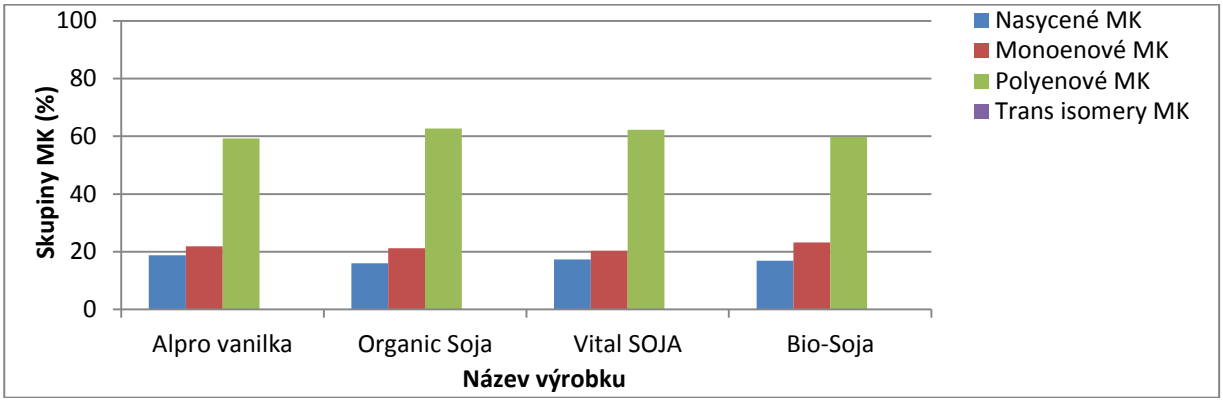
Obsah mastných kyselin byl stanoven v těchto vzorcích: 8 sušených vzorků a 4 tekuté vzorky sójových nápojů, 9 dehydratovaných bujónů a 3 tekuté, 15 instantních „čínských“ polévek, 18 instantních polévek a 5 instantních náhrad smetany do kávy a čaje. Dle Vyhlášky 331/1997 Sb. se dehydratovanými výrobky rozumí: „Potravina vzniklá smísením složek se sníženým obsahem vlhkosti, pastovité nebo sypké konzistence, která se před konzumací obnoví zejména tekutinou.“ Obsah vody musí být nejvýše 15 %. Pozornost byla zaměřena především na obsah TFA, jejichž zdrojem jsou částečně ztužené tuky. Dále byl hodnocen celkový obsah SFA, jejichž konzumaci je vhodné omezit (max. 10 % z celkového energetického příjmu).

Z **obrázku 1** vyplývá, že u čtyřech vzorků sušených sójových nápojů byl obsah nasycených MK 93,9 - 96,4 %. Převládající byly zejména laurová, myristová, stearová a palmitová kyselina, z čehož vyplývá přidání kokosového nebo palmojádrového tuku (nasycené mastné kyseliny se středně dlouhým uhlíkovým řetězcem). U dalších čtyřech vzorků sušených nápojů byl obsah TFA v rozmezí 38,5 - 40,6 %. Do těchto výrobků byl přidán parciálně ztužený rostlinný tuk (vysoký obsah *trans*-nenasycených mastných kyselin). Konzumací jedné porce tohoto výrobku je překročen limit pro tolerovatelný denní příjem TFA (1% z celkového energetického příjmu). Zatímco sušené sójové nápoje nelze ze zdravotního hlediska hodnotit pozitivně, v tekutých sójových nápojích byl stanoven vysoký obsah PUFA 59,3 - 62,7 % (**obr. 2**). Obsah TFA byl pouze 0,1-0,2 % a SFA 15,9-18,8 %. U těchto tekutých výrobků zůstal zachován přirozeně obsažený sójový olej (převaha kyseliny linolové).

Průměrný obsah tuku v sušených sójových nápojích byl 25,1 g/100 g výrobku, což odpovídá 2,51 g tuku/ 100 ml nápoje. Pouze jediný sušený sójový nápoj obsahoval jen 10 g tuku/100 g výrobku (1 g/ 100 ml nápoje). Průměrný obsah tuku v tekutých sójových nápojích byl 1,8 g/100 ml nápoje.

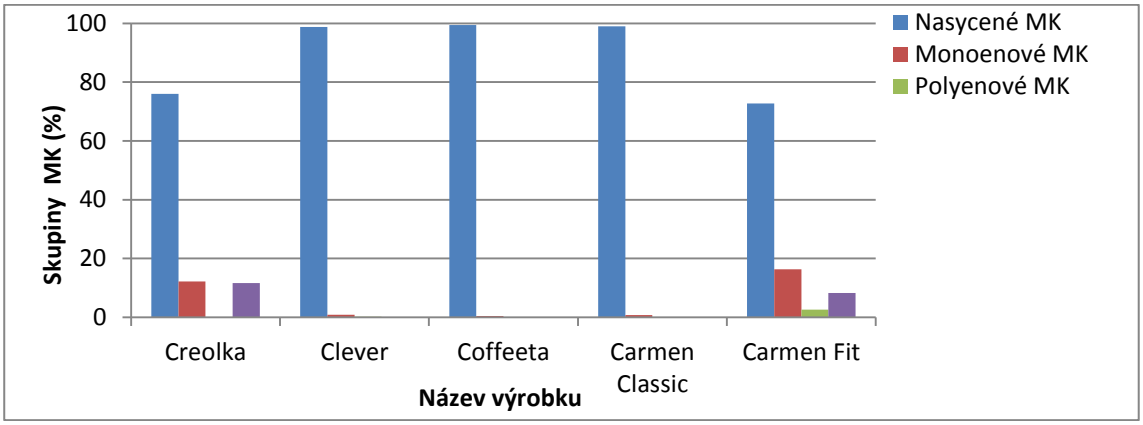


Obrázek 1: Zastoupení skupin FA v sušených sójových nápojích



Obrázek 2: Zastoupení skupin FA v tekutých sójových nápojích

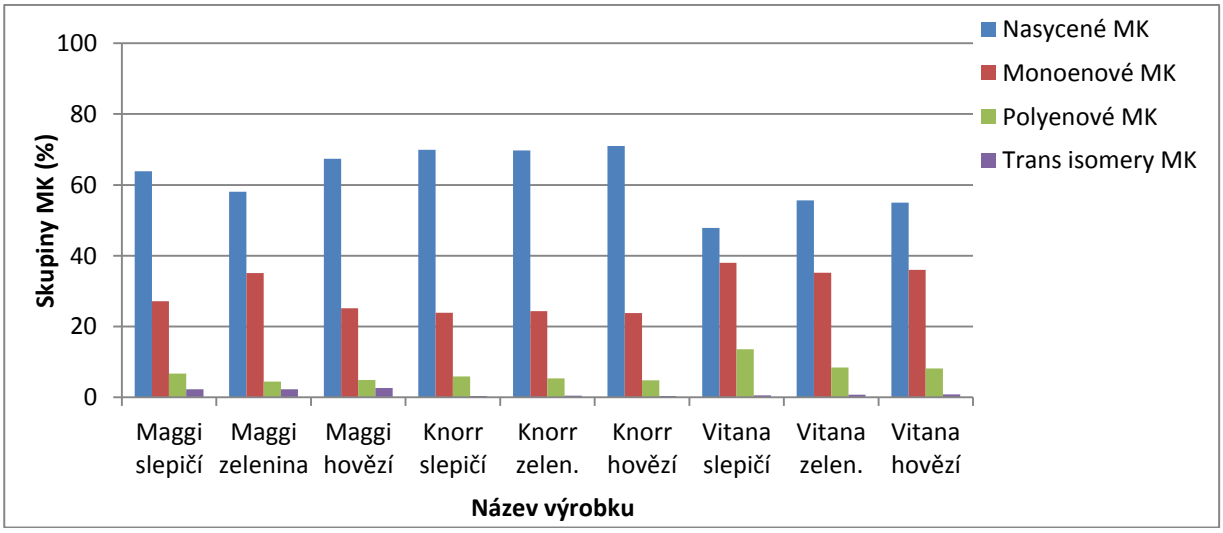
Obrázek 3 ukazuje, že tři z pěti vzorky přídavků do kávy a čaje obsahovaly prakticky jen SFA v rozmezí 98,8-99,4 %. Převažovala laurová kyselina (44,12 %), v menší míře byly zastoupeny myristová, stearová a palmitová kyselina. Takové složení vypovídá o použití kokosového a palmojádrového tuku při výrobě. Obsah tuku v těchto vzorcích byl průměrně 26,1 g/ 100 g výrobku. Další dva vzorky obsahovaly SFA v nižším množství (72,4 a 76 %), kde převažovala palmitová kyselina (14,5 g tuku/ 100 g výrobku). Tyto dva vzorky obsahovaly vysoké množství TFA (11,7 a 8,3 %), což překračuje přibližně 10x tolerovatelný denní příjem pro TFA.



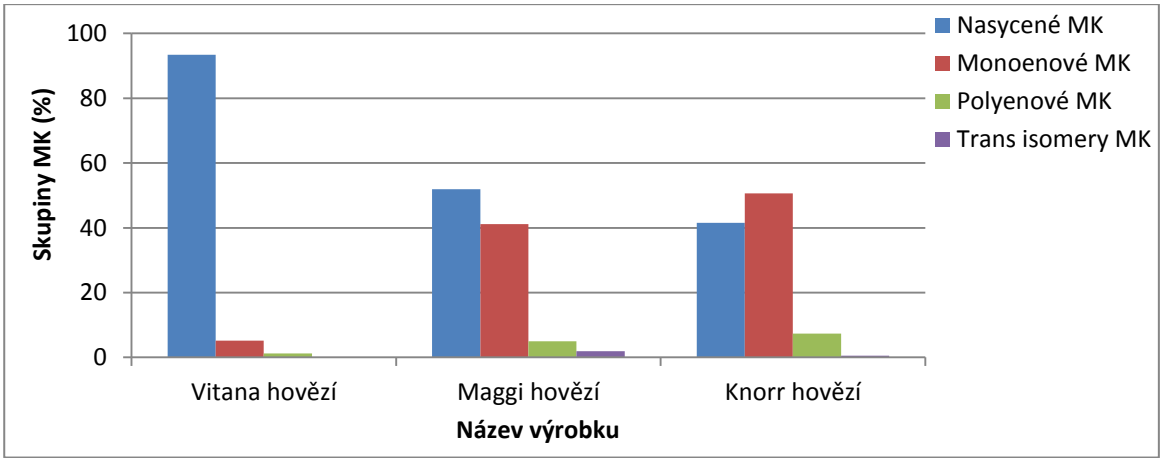
Obrázek 3: Zastoupení skupin FA v instantních přídavcích do kávy a čaje

Obrázky 4 a **5** uvádí procentuální zastoupení skupin FA v dehydratovaných a tekutých bujónech. Z **obrázku 4** bujónů je vidět, že všichni tři výrobci (Vitana, Unilever – výrobky s označením Knorr, Nestlé – výrobky s označením Maggi) použili při výrobě podobný typ tuku. Zastoupení SFA v dehydratovaných bujónech se pohybovalo v rozmezí 47,9-71 % a obsah TFA 0,4

-2,6 %. Costa *et al.* (2016) uvádí obsah TFA v pěti vzorcích bujónů v kostce 0,12-0,85 g/100 produktu. Dva tekuté bujóny obsahovaly 41,5 a 51,9 % SFA (zastoupení mastných kyselin v tuku podobné jako u klasických bujónů), další vzorek obsahoval přibližně 2x více SFA (93,1 %). Odlišné složení vypovídá o možném použití kokosového či palmojádrového tuku při výrobě tohoto bujónu od Vitany. Obsah TFA u tekutých bujónů byl v rozmezí 0,2-1,9 %. Obsah tuku u klasických bujónů Maggi byl v průměru 18-22,6 g/ 100 g výrobku, u tekutých bujónů 2,8-6,5 g tuku/ 100 g výrobku.

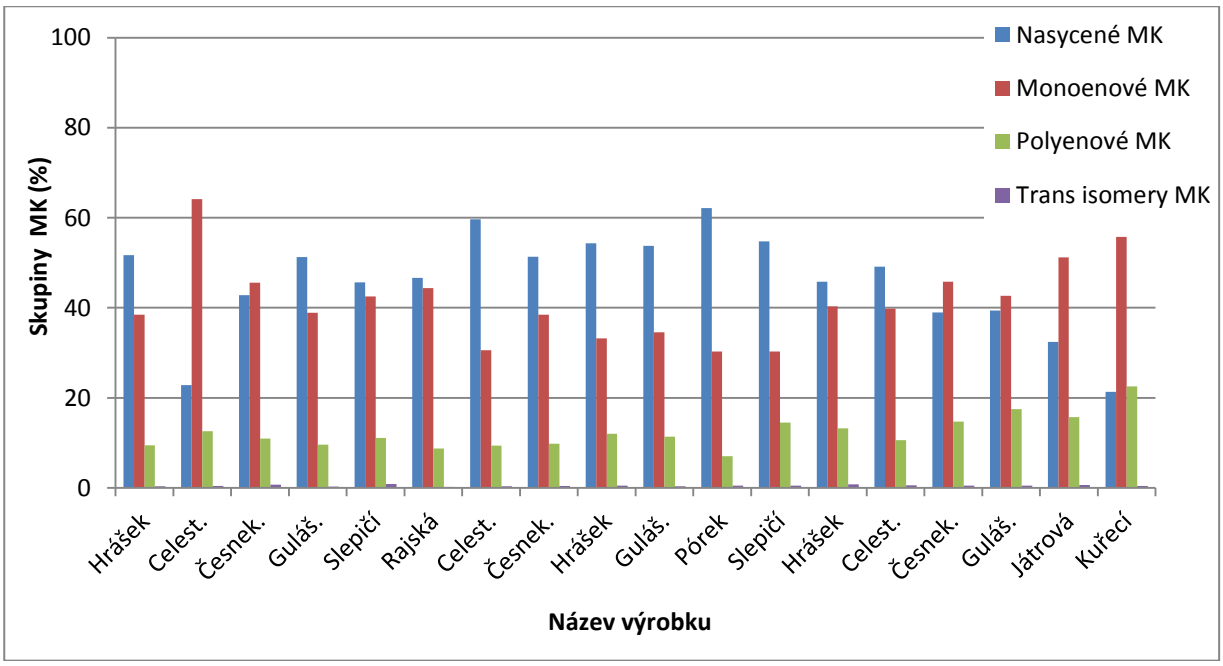


Obrázek 4: Zastoupení skupin FA v dehydratovaných bujónech



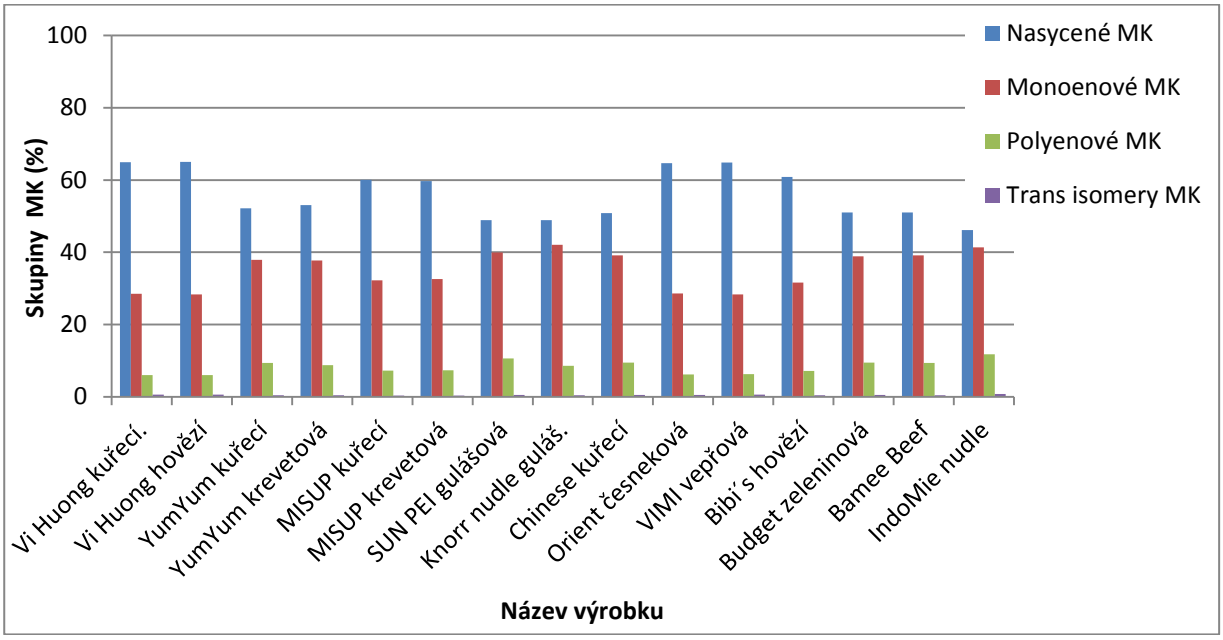
Obrázek 5: Zastoupení skupin FA v tekutých bujónech

Dále byly analyzovány dehydratované instantní polévky **(obr. 6).** Obsah SFA byl 21,3 - 62,2 %, z nasycených MK převažovala palmitová kyselina, méně pak byla zastoupena stearová kyselina. Z monoenových MK převažovala olejová kyselina. Přítomnost velkého množství palmitové kyseliny opět nasvědčuje tomu, že při výrobě mohl být použit palmový olej nebo kokosový či palmojádrový tuk. Olejová kyselina zase vypovídá o použití rostlinného oleje, např. slunečnicového. Obsah TFA se pohyboval do 1 %. Tuk se pohyboval v rozmezí 4,3-25 %. Roe *et al.* (2013) uvádí obsah TFA v jednom vzorku instantní polévky 0.05 g TFA/100 g tuku a Costa *et al.* (2016) uvádí hodnoty TFA v pěti vzorcích 0,02-0,18 g/100 g produktu. Ani v případě těchto vzorků obsah TFA nepřesáhl 1 %.



Obrázek 6: Zastoupení skupin FA v dehydratovaných instantních polévkách

Složení tuku dehydratovaných instantních nudlových polévek **(obr. 7)** bylo podobné jako u instantních polévek. Obsah SFA byl 62,2 % a 46,1-65 % s převažující palmitovou kyselinou, dále 28,35 až 42,08 % monoenových MK, z nichž převládala vždy olejová kyselina. Polyenové MK byly v tuku obsaženy od 6,01 do 11,76 % a převažovala linolová kyselina. Z obsahu palmitové kyseliny lze předpokládat (stejně jako u instantních polévek Knorr, Vitana a Maggi), že při výrobě byl použit palmový olej nebo kokosový či palmojádrový tuk. Z přítomnosti olejové a linolové kyseliny lze vyvodit, že při výrobě byl použit zdravější rostlinný olej, např. slunečnicový. Průměrný obsah tuku v nudlích instantních čínských polévek byl 20,1 g/ 100 g výrobku. Obsah TFA se pohyboval do 1 %.



Obrázek 7: Zastoupení skupin FA v dehydratovaných instantních nudlových „čínských“ polévkách

Závěr

Cílem práce bylo zhodnotit obsah jednotlivých skupin mastných kyselin, speciálně pak nasycených a trans-mastných kyselin ve vybraných dehydratovaných výrobcích. Byly analyzovány sójové nápoje (sušené a tekuté), bujóny (dehydratované a tekuté), instantní přídavky do kávy a čaje, dehydratované instantní polévky a dehydratované nudlové instantní polévky („čínské“).

Sójové nápoje jsou známé především mezi lidmi stravujícími se alternativně, kdy tyto nápoje používají jako náhrada klasického mléka. Analýza však ukázala, že čtyři vzorky sušeného nápoje obsahovaly vysoké množství SFA 93,9 - 96,4 % a další čtyři vzorky obsahovaly TFA v množství 38,5 - 40,6 %. Konzumací jedné porce tohoto výrobku je překročen limit pro tolerovatelný denní příjem TFA (1% z celkového energetického příjmu). Tekuté sójové nápoje obsahovaly vysoký podíl PUFA 59,3 - 62,7 %, obsah TFA byl < 1 %. Tři z pěti vzorků přídavků do kávy a čaje obsahovaly prakticky jen SFA v rozmezí 98,8-99,4 %. Další dva vzorky obsahovaly SFA v nižším množství (72,4 a 76 %), avšak obsah TFA (11,7 a 8,3 %) převyšoval přibližně 10x tolerovatelný denní příjem TFA. Zastoupení SFA v dehydratovaných bujónech se pohybovalo v rozmezí 47,9-71 % a obsah TFA 0,4-2,6 %. Dva tekuté bujóny obsahovaly 41,5 a 51,9 % SFA, další vzorek obsahoval přibližně 2x více SFA (93,1 %). Obsah TFA u tekutých bujónů byl v rozmezí 0,2-1,9 %. Dehydratované instantní polévky a dehydratované instantní nudlové polévky obsahovaly SFA v rozmezí 21,3-62,2 % a 46,1-65 %. Obsah TFA se pohyboval v obou typech polévek do 1 %.

Ačkoli obsah částečně ztužených tuků v potravinách klesá, někteří výrobci je stále využívají (náplně, polevy, cukrovinky). Vybrané dehydratované výrobky je doporučeno konzumovat v omezené míře kvůli vysokému obsahu nasycených mastných kyselin, jejichž příjem by měl být do 10 % z celkového energetického příjmu (tj. 70 g/den) a v některých případech vysokému obsahu *trans*-mastných kyselin (sušený sójový nápoj, instantní náhrady do kávy a čaje).

Literatura

Roe M., Pinchen H., Church S., Elahi S., Walker M., Farron-WilsonM., Buttriss J., Finglas P. (2013): Trans fatty acids in a range of UK processed foods. Food Chemistry 140 : 427–431

Costa N., Cruz R., Graça P., Breda J., Casal S. (2016): Trans fatty acids in the Portuguese food market. Food Control 64: 128-134

P 1

ZHODNOCENÍ JAKOSTI MEDŮ OD ČESKÝCH VČELAŘŮ

Blanka Zábrodská, Ivana Borkovcová, Lenka Vorlová
Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

Abstrakt

V této studii byla hodnocena jakost medů od českých včelařů vzhledem k vysoké poptávce spotřebitelů a situaci v tržní síti. U čtyřiceti květových i medovicových medů byly stanoveny základní legislativní fyzikálně-chemické parametry, tj. obsah vody, elektrická vodivost, titrační kyselost, obsah 5-hydroxymethylfurfuralu (HMF), aktivita diastázy a pH. U sledovaných vzorků medu nedošlo dle Vyhlášky č. 76/2003 Sb. k porušení legislativních limitů u hodnot elektrické vodivosti, titrační kyselosti a HMF. U pěti vzorků medu došlo k překročení legislativního limitu pro obsah vody (< 20 %) a u jednoho vzorku nebyl splněn legislativní limit pro aktivitu diastázy (> 8° dle Schadeho). Avšak při posouzení vzorků dle Normy jakosti ČSV 1/1999 Český med (obsah HMF < 20 mg/kg oproti < 40 mg/kg daným legislativou a obsah vody < 18 %) nesplňuje limit již dvanáct vzorků medu svým obsahem vody a čtyři obsahem HMF. Tyto nedostatky mohly být způsobeny předčasným vytočením medu a jeho záhřevem nad 40 °C. Toto lze vysvětlit nedostatečnou znalostí problematiky včelaření začínajících včelařů, což by bylo možné vyřešit školením absolvovaným povinně při registraci každého nového včelaře.

Klíčová slova***:*** včelí produkty; voda; hydroxymethylfurfural; aktivita diastázy; záhřev

Úvod

Med od českých včelařů je velice žádaný a často nedostatkový, protože situace v tržní síti je vzhledem k časté nevyhovující jakosti medů a jejich stále častějšímu falšování nepříznivá. Proto je nutné věnovat jakosti a zdravotní nezávadnosti medu od českých včelařů zvýšenou pozornost. Problematickými fyzikálně-chemickými parametry bývají nejčastěji obsah vody, obsah 5-hydroxymethylfurfuralu (HMF) a aktivita enzymu diastázy.

Obsah vody je důležitým znakem kvality medu, je totiž indikátorem úrovně zralosti medu, stárnutí medu a dodržení vhodných podmínek během skladování. Obsah vody také ovlivňuje ostatní vlastnosti medu, především jeho údržnost (Escuredo *et al.*, 2013). Její obsah se může měnit od 15 do 21 % v závislosti na úrovni zralosti medu dosažené v úle, botanickém původu medu a zpracovatelských technikách včelaře (Yücel, Sultanoglu, 2013).

Přípustný limit pro obsah vody je dle platné legislativy stanoven na 20 %. V České republice vznikla svazová norma "Český med", která vzhledem ke způsobu ošetřování včelstev a zpracování medu v ČR zpřísňuje svými požadavky na kvalitu (18 %) legislativní předpisy. To je také jeden z důvodů, proč je český med tolik žádaný v zahraničí. Med s hodnotou vyšší než 22 % je nezralý a nad 25 % už podléhá fermentaci. Při hodnotách nižších než 17,1 % není u medu prakticky žádná náchylnost k fermentaci, která u hodnot mezi 17,1 - 20 % závisí na počtu buněk osmofilních kvasinek (Vorlová *et al.*, 2002).

Vysoký obsah vody může být způsoben předčasným vytočením medu, kdy je med ještě nezralý a nedostatečně zahuštěn včelami nebo také nevhodnými podmínkami skladování (med je totiž hygroskopický). Proto je důležité med skladovat v suchém prostředí a jako obal používat sklenice s dobře těsnícími víčky.

HMF je endogenní cizorodá látka, vyskytující se v potravinách obsahujících sacharidy. Vzniká v nich jednak dehydratací hexos a hexulos v kyselém prostředí a jednak v důsledku Maillardových reakcí.

Obsah HMF vzrůstá při záhřevu nad 40 °C (Tosi *et al.*, 2002; Fallico *et al.*, 2004; Turhan *et al.*, 2008). Tato teplota bývá často překročena při ztekucování zkrystalizovaného medu, jelikož tekutý med je pro spotřebitele stále atraktivnější, než med zkrystalizovaný. HMF má ve vysokých

koncentracích nepříznivé účinky na lidské zdraví (Janzowski *et al.*, 2000; Capuano, Fogliano, 2011; Islam *et al.*, 2014) a jeho limit je dán legislativou (Vyhláška 76/2003 Sb.).

Diastáza je enzym, který zajišťuje štěpení škrobu na jednodušší sacharidy. Při záhřevu současně s HMF klesá aktivita důležitých, zdraví prospěšných enzymů jako je právě diastatická aktivita (Tosi *et al.*, 2004; Babacan, Rand, 2007; Tosi *et al.*, 2008; Samborska, Czelejewska, 2014), jejíž limit je taktéž uveden v legislativě.

Materiál a metody

V této studii jsme analyzovali čtyřicet vzorků květových i medovicových medů od českých včelařů z let 2011-2014. Vzorky pocházely ze Zlínského, Plzeňského, Olomouckého, Jihomoravského, Pardubického, Královéhradeckého, Středočeského, Moravskoslezského kraje a z Vysočiny. Obsah vody byl měřen refraktometricky (metoda Chatawayova revidovaná Wedmorem). HMF byl stanoven metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Analýza byla provedena pomocí separačního modulu Alliance 2695 s PDA detektorem 2996. Separace probíhala na koloně Zorbax Eclipse XDB C18, 150 x 4,6 mm, 5 µm. Mobilní fázi tvořila směs methanolu a vody v poměru 10: 90. Průtok mobilní fáze byl 0,8 ml/min, teplota kolony 35 °C, velikost nástřiku 10 µl. Detekce probíhala v UV oblasti při vlnové délce 285 nm. K vyhodnocení byla použita metoda kalibrační přímky pomocí softwaru Empower 2. Diastatická aktivita byla stanovena metodou dle Shadeho, elektrická vodivost byla měřena konduktometricky, pH pomocí pH elektrody a kyselost byla stanovena titračně.

Výsledky a diskuse

U sledovaných vzorků medu nedošlo dle Vyhlášky č. 76/2003 Sb. k porušení legislativních limitů u hodnot elektrické vodivosti, titrační kyselosti a HMF.

Tabulka 1: Analýza fyzikálně chemických parametrů květových a medovicových medů

Stanovené parametry / Statistické funkce	Voda [%]	Elektrická vodivost [mS/m]	Titrační kyselost [mekv/kg]	HMF [mg/kg]	Aktivita diastázy [° dle Schadeho]	pH
Průměr	17,5	61,57	25,67	7,9	15,36	4,21
SD	1,85	40,28	9,51	8,65	4,77	0,35
Medián	17	46,7	27	4,74	14,88	4,18
MAX	21,2	133,16	47	32,44	28,64	4,86
MIN	15	12,29	10	0,12	7,99	3,46

U pěti vzorků medu došlo k překročení legislativního limitu pro obsah vody (< 20 %) a u jednoho vzorku nebyl splněn legislativní limit pro aktivitu diastázy (> 8° dle Schadeho).

Avšak při posouzení vzorků dle Normy jakosti ČSV 1/1999 Český med (obsah HMF < 20 mg/kg oproti < 40 mg/kg daným legislativou a obsah vody < 18 %) nesplňuje limit již dvanáct vzorků medu svým obsahem vody a čtyři obsahem HMF. U pěti vzorků klesly hodnoty diastatické aktivity téměř k nejnižší hranici dané legislativou (Vyhláška 76/2003 Sb.). Z toho vyplývá, že by tyto hodnoty nemusely v době spotřeby odpovídat legislativním požadavkům.

Zvýšený obsah vody v medech byl pravděpodobně způsoben jeho předčasným vytočením nebo nevhodným skladováním vzhledem k jeho hygroskopicitě. Vzorky se zvýšeným obsahem HMF mohly být zahřáty, ovšem dle korelace hodnot diastatické aktivity a HMF lze usuzovat, že zahřát

byl pravděpodobně pouze jeden vzorek, kde diastatická aktivita klesla pod hranici danou legislativou (Vyhláška 76/2003 Sb.) a HMF překročil limit Normy jakosti ČSV 1/1999. Vzorky s nízkou diastatickou aktivitou měly aktivitu tohoto enzymu buď přirozeně nižší, nebo byly nevhodně či dlouhodobě skladovány.

Tyto hodnoty lze vysvětlit nedostatečnou znalostí problematiky včelaření začínajících včelařů, což by bylo možné vyřešit školením, které by absolvoval každý nový včelař povinně při registraci.

Závěr

V medech pocházejících od českých včelařů byly zaznamenány zvýšené hodnoty obsahu vody. Také byl zjištěn velmi mírný nárůst medů s vyšším obsahem HMF. Zvýšené hodnoty vody a HMF mohly být způsobeny pravděpodobně postupnou náhradou předchozí generace včelařů včelaři novými, kteří nemají dostatek zkušeností s problematikou včelaření. Tuto situaci by bylo možné vyřešit školením absolvovaným povinně při registraci každého nového včelaře.

Poděkování

Tato práce byla financována grantem IGA VFU Brno 214/2016/FVHE.

Literatura

BABACAN, S.; RAND, A. G. Characterization of honey amylase. *Journal of Food Sciences.* 2007, vol. 72, p. 50-55.

BARTÁKOVÁ, K.; DRAČKOVÁ, M.; BORKOVCOVÁ, I.; VORLOVÁ, L. Impact of microwave heating on hydroxymethylfurfural content in Czech honeys. *Czech Journal of Food Sciences.* 2011, vol. 29, no. 4, p. 328–336.

CAPUANO, E.; FOGLIANO, V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategie. *LWT - Food Science and Technology*. 2011, vol. 44, no. 4, p. 793–810.

ČESKÝ SVAZ VČELAŘŮ Svazová norma ČESKÝ MED Norma jakosti ČSV 1/1999.

ESCUREDO, O.; MÍGUEZ, M.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; SEIJO, M. C. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 2013, vol. 138, p. 851-856.

FALLICO, B.; ZAPPALA´, M.; ARENA, E.; VERNERA, A. Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*. 2004, vol. 85, p. 305–313.

ISLAM, M. N.; KHALIL, M. I.; ISLAM, M. A.; GAN, S. H. Toxic compounds in honey. *Journal of Applied Toxicology*. 2014, vol. 34, no. 7, p. 733-742.

JANZOWSKI, C.; GLAAB, V.; SAMIMI, E.; SCHLATTER, J.; EISENBRAND, G. 5-hydroxymethyl furfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food and Chemical Toxicology*. 2000, vol. 38, no. 9, p. 801–809.

MZe Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. *Sbírka zákonů*, 2003, část 32, p. 2470-2487.

SAMBORSKA, K.; CZELEJEWSKA, M. The influence of thermal treatment and spray dryiny on the physicochemical properties of Polish honeys. *Journal of Food Processing and Preservation.* 2014, vol. 38, no. 1, p. 413-419.

TOSI, E.; CIAPPINI, M.; RE, E.; LUCERO, H. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*. 2002, vol. 77, p. 71–74.

TOSI, E. A.; RE, E.; LUCERO, H.; BULACIO, L. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 2004, vol. 37, p. 669–678.

TOSI, E.; MARTINET, R.; ORTEGA, M.; LUCERO, H.; RE, E. Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry*. 2008, vol. 106, p. 883–887.

TURHAN, I.; TETIK, N.; KARHAN, M.; GUREL, F.; REYHAN TAVUKCUOGLU, H. Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT - Food Science and Technology*. 2008, vol. 41, p. 1396–1399.
VORLOVÁ, L.; GÁLKOVÁ, H.; PŘIDAL, A.; NAVRÁTIL, S.; KARPÍŠKOVÁ, R. *Med – Souborná analýza*. Brno: VFU Brno, 2002, p. 67. ISBN 80-7305-450-7.
YÜCEL, Y.; SULTANOGLU, P. Characterization of honeys from Hatay region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 2013, vol. 1, p. 16-25.

Kontaktní adresa: Blanka Zábrodská, Mgr., Ústav hygieny a technologie mléka, FVHE VFU Brno, Palackého 1/3, 612 42 Brno, H13015@vfu.cz

P 2

CHARAKTERIZACE MAJORITNÍCH VONNÝCH LÁTEK ŘEPKOVÝCH MEDŮ POMOCÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE S OLFAKTOMETRICKÝM DETEKTOREM

Kružík V.[1], Vápenka L.[1], Škorpilová T.[1], Zíková A.[1], Čížková H.[1]
[1)] Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Mezi nejvýznamnější jednodruhové květové medy v České republice patří med řepkový. Řepka (brukev řepka olejka, *Brassica napus L.* a další hybridy a odrůdy) je pěstována na velkých plochách téměř na celém území. Pro včely řepka znamená významný jarní zdroj pylu a nektaru. Mimo Evropu je řepkový med produkován ve všech zemích s mírným podnebím (dominantní je Severní Amerika a Čína). Zajímavým pro spotřebitele ho činí především tyto znaky 1) jedná se o první v sezoně vytáčený jednodruhový med, 2) nezbytné pastování tohoto druhu medu zajišťuje praktickou konzistenci a stabilitu výrobku, 3) med má specifické senzorické vlastnosti.

Základní fyzikálně-chemické parametry evropských řepkových medů jsou uvedeny v Tab. 1. Řepkový med je charakteristický vysokým zastoupením glukózy (absolutně i v poměru ke fruktóze), což má za následek jeho velmi rychlou schopnost krystalizace. Proto také bývá někdy přidáván do jiných medů, což zajistí jejich jemnější krystalizaci. S náchylností ke krystalizaci je spojena další, nežádoucí vlastnost řepkového medu a to náchylnost ke kvašení.

Tab. 1 Charakteristické parametry evropských řepkových medů[1]

Elektrická vodivost (mS/cm)	Volná kyselost (mekv/kg)	Aktivita diastázy (DN)	Fruktóza (g/100 g)	Glukóza (g/100 g)	Poměr fruktóza / glukóza	Poměr glukóza/voda
0,19 ± 0,05	10,3 ± 2,1	26,9 ± 5,8	38,3 ± 1,7	40,5 ± 2,6	0,95 ± 0,07	2,37 ± 0,21

Řepkový med je charakteristický světle žlutou (v tekutém stavu), až téměř bílou barvou (ve zkrystalizovaném stavu). Chuť a vůně je nejčastěji popisována jako jemně aromatická až neutrální. Charakteristickými sloučeninami, které typické aroma řepkového medu vytvářejí, se v minulosti zabývalo pouze několik zahraničních studií. Stručné shrnutí dosud pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem identifikovaných charakteristických sloučenin v řepkových medech je uvedeno v Tab. 2.

Tab. 2 Významné vonné sloučeniny řepkových medů

Původ a počet analyzovaných vzorků	Sloučeniny identifikované jako charakteristické pro řepkové medy	Autoři a rok publikované studie
Německo, 2 šarže	(E)-*β*-damascenon, kyselina fenyloctová, 4-methoxybenzaldehyd, 3-fenylpropanová kyselina, 4-vinylguajakol	Ruisinger B., Schieberle P., 2012[2]
Litva, 11 vzorků medu	Dimethylsulfid, nonanal, benzaldehyd	Kaškoniene V., Venskutonis P. R., Čeksteryte V., 2008[3]
Evropa*, 4 vzorky medu	Dimethyldisulfid, benzaldehyd	Radovic B.S., Careri M., Mangia A., Musci M., Gerboles M., Anklam E., 2001[4]
Polsko, 8 vzorků medu	Benzylalkohol, 2-methyl-2-butenal, p-cymen-8-ol	Wardencki W., Chmiel T., Dymerski T., Biernacka P., Plutowska B., 2009[5]

*není blíže specifikováno pro řepkové medy

Výše uvedené studie se zabývaly analýzami evropských řepkových medů. Nicméně jejich výsledky se vzájemně neshodují. Není tedy jasné, které vonné sloučeniny by mohly být využity jako potenciální markery pro identifikaci řepkových medů, ani které látky vyskytující se případně i v nízkých koncentracích, nejvýznamněji přispívají k vůni řepkového medu.

MATERIÁL A METODY

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda GC-O/MS, tedy spojení plynového chromatografu s olfaktometrem a hmotnostním detektorem. Samotné vzorkování probíhalo pomocí techniky SPME (Solid phase microextraction, vlákno DVB/CAR/PDMS). Olfaktometrické posouzení vzorku bylo provedeno tzv. metodou detekce frekvence (Detection frequency method, tzv. NIF metoda).

V rámci studie byly proměřeny medy pocházející výlučně z České republiky. Celkem se jednalo o 14 vzorků tj. 5 vzorků z roku 2015 skladovaných 12 měsíců při laboratorní teplotě (Med 1-5) a 9 vzorků z roku 2014 skladovaných 24 měsíců při laboratorní teplotě (Med 6-14). Pro ověření botanického původu vzorků byla použita pylová analýza (metodika dle ČSN 57 0190, mikroskopický rozbor medu).

VÝSLEDKY

Pomocí techniky GC-O/MS byly zjištěny významné aroma aktivní látky řepkových medů (Tab. 3). Mezi látky s největší senzorickou intenzitou patří hotrienol, phenylethyl alkohol, případně isoborneol. Pro srovnání je dále uvedeno relativní zastoupení jednotlivých těkavých látek (Tab. 4), které byly identifikovány pomocí hmotnostního detektoru (srovnání naměřených spekter s NIST knihovnou). Ověření botanického původu pomocí pylové analýzy potvrdilo řepkový původ medů. Zastoupení řepkových pylových zrn bylo ve vzorcích v rozmezí 84 – 93 %. Na obrázku níže (Obr. 1) je možné vidět typickou kulovitou stavbu řepkového pylového zrna.

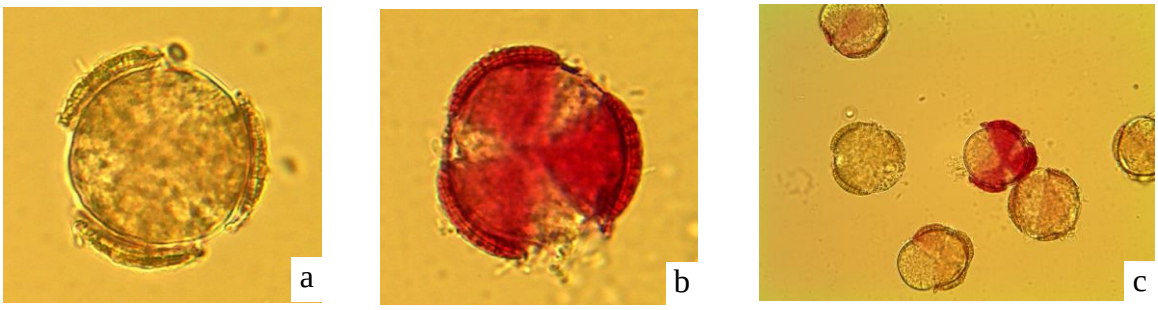
Tab. 3 Aroma aktivní látky řepkového medu

Identifikovaná sloučenina	Retenční čas (min)	Popis vůně	Průměrná intenzita**
Benzaldehyd	5,59	Mandlová, ovocná	2
Linalool oxid	7,37	Květinová, kořeněná	2
Linalool	7,75	Citrusová, květinová	1
Hotrienol	7,83	Sladká, tropická	4
Phenylethyl alkohol	8,01	Sladká, květinová	3
Isoborneol	8,89	Zemitá, nepříjemná	3
1-(2-butoxy-1-methylethoxy)-2-propanol	9,92	Sladká, příjemná	2
3,7-dimethyl-2,6-oktadien-1-ol	10,01	Květinová, citrusová	3

**Intenzita vůně: 5 = intenzivní, 0 = žádná.

Dominantní hotrienol se v analyzovaných vzorcích vyskytoval v relativním zastoupení 11,4 až 49,3 %. Tato sloučenina je typická svým aroma, které je označováno jako květinové, svěží,

sladké či citrusové. Dále je možné v tabulce (Tab. 4) pozorovat velmi variabilní celkový obsah těkavých látek mezi jednotlivými vzorky medů.



Obr. 1 Pylová zrna řepky olejky (*Brassica napus L.*), typický kulovitý tvar se 3 klíčními otvory (póry), průměr zrn 25 µm, zvětšení 1000x, preparáty (Obr. 1b, 1c) obarveny bazickým fuchsinem

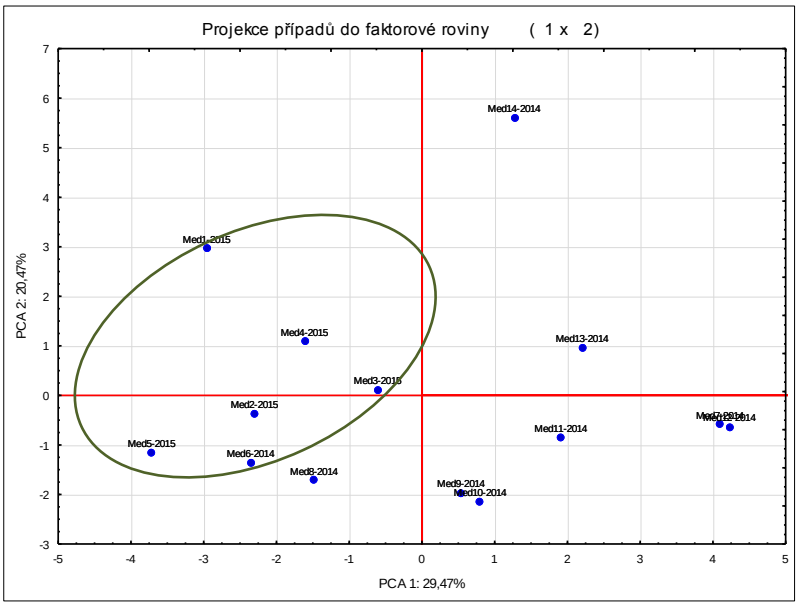
Tab. 4 Relativní zastoupení a celková plocha majoritních těkavých sloučenin (analyzováno 14 řepkových medů)

Analýza těkavých látek (medy)		Analyzované medy													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Identifikovaná Sloučenina	Retenční čas (min)	Relativní zastoupení (%)													
3-methyl-butannitril	2,56	18,0	9,2	11,3	16,6	1,3	2,5	13,9	1,8	8,0	10,1	13,7	6,9	24,4	18,9
Neindentifikováno	3,75	17,4	7,2	14,3	8,2	2,9	5,1	1,3	1,1	1,0	1,1	4,4	2,2	6,7	37,7
Benzaldehyd*	5,59	3,7	8,9	3,1	8,3	16,7	14,4	1,3	5,5	6,3	4,3	3,8	3,4	3,3	3,0
2-ethyl-1-hexanol	6,62	1,8	2,1	1,9	1,8	1,8	1,6	0,6	1,8	2,4	2,2	1,2	0,5	0,8	0,7
Benzenacetaldehyd	6,92	2,9	2,2	2,4	2,9	5,4	1,7	3,3	1,6	1,5	2,3	1,1	0,6	3,6	2,1
Linalool oxid*	7,37	2,4	5,3	5,7	5,0	9,9	4,6	2,4	3,6	4,7	4,8	5,1	2,8	2,2	3,4
Linalool*	7,75	4,0	2,2	2,1	1,7	0,9	2,7	1,2	2,1	1,0	1,2	0,9	0,4	0,6	0,4
Hotrienol*	7,83	11,4	14,5	26,3	15,9	25,3	36,2	12,7	49,3	12,7	15,4	26,1	12,4	23,7	13,4
Phenylethyl alkohol*	8,01	3,8	4,9	5,9	4,0	5,1	6,1	3,9	6,1	4,8	5,8	4,3	2,4	3,7	1,1
Benzylnitril	8,39	2,4	0,8	0,9	1,9	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,8	0,3	0,5	2,4
Lilac aldehyd C (isomer)	8,43	1,8	1,2	0,6	0,6	1,3	1,1	0,0	0,8	0,6	0,6	0,6	0,0	0,4	0,0
Lilac aldehyd D (isomer)	8,57	2,8	1,7	0,9	1,7	3,5	2,6	0,7	1,9	1,4	0,8	0,9	1,0	0,8	2,2
Isoborneol*	8,89	1,3	14,1	4,6	4,3	4,3	4,5	39,4	4,1	22,5	19,1	6,8	44,2	13,2	0,4
α-Terpineol	9,17	3,5	1,7	0,5	1,5	0,0	0,0	0,0	2,4	5,3	5,3	1,8	2,7	0,6	0,2
Dekanal	9,32	1,9	2,8	1,9	1,6	1,1	1,8	0,8	1,8	1,5	1,3	1,0	0,8	1,5	0,5
2-Nonannitril	9,59	2,7	2,1	1,1	2,5	1,8	1,0	0,5	1,2	2,0	2,1	1,3	0,7	1,5	1,1
1-(2-butoxy-1-methylethoxy)-2-propanol*	9,92	8,0	10,4	10,0	11,4	10,1	8,3	13,1	8,5	11,7	11,0	12,1	10,6	9,1	3,7
3,7-dimethyl-2,6-oktadien-1-ol*	10,01	2,4	1,0	0,0	0,6	0,5	0,0	2,4	0,0	6,9	7,9	9,7	5,1	0,4	0,2
Neidentifikováno	10,26	1,7	1,3	1,1	2,4	2,3	2,4	0,3	2,6	0,9	0,9	0,6	0,9	0,3	1,6
2-phenyl-2-pentanol	11,48	2,7	1,3	0,7	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,5	0,3	0,5
1-dodekanol	12,86	1,2	1,7	0,5	1,1	0,7	0,0	0,4	0,0	0,7	0,7	0,7	0,4	0,3	0,2
Celková plocha těkavých látek (hodnota/10^6)	-	5,4	8,8	9,0	7,6	8,1	5,7	16,2	7,4	7,5	8,2	6,0	27,2	12,7	24,0

*aroma aktivní látky řepkového medu

Profily těkavých látek (resp. relativní zastoupení (%) 21 těkavých majoritních sloučenin) všech vzorků byly zpracovány pomocí analýzy hlavních komponent (PCA). Komponentní skóre

jednotlivých objektů v rozptylovém diagramu jsou uvedeny na Obr. 2. První hlavní komponenta popisuje 29,5 % proměnlivosti (rozptylu) naměřených dat a druhá komponenta 20,5 %, první dvě hlavní komponenty tedy popisují 50,0 % proměnlivosti.



Obr. 2 Rozptylový diagram komponentního skóre (1. a 2. hlavní komponenta), projekce všech případů (14 řepkových medů) do komponentní roviny

Na diagramu je možné pozorovat shluk řepkových medů z roku 2015 (označené zelenou elipsou). Tyto vzorky jsou charakteristické zápornou hodnotou první hlavní komponenty. Pomocí analýzy hlavních komponent bylo dále objasněno, že k rozdělení vzorků v prostoru první a druhé hlavní komponenty nejvíce přispívají následující sloučeniny: benzacetaldehyd, lilac aldehydy (isomery), linalool a linalool oxid.

ZÁVĚR

Pomocí metody GC-O/MS byly identifikovány aroma aktivní sloučeniny typické pro květové vícedruhové medy. Prozatím nebyly určeny těkavé látky vyskytující se pouze v řepkových medech. Nicméně byly v rámci měření zjištěny rozdíly mezi vzorky z roku 2014 a 2015. Bez dalších komplexních analýz nelze určit, zda jsou tyto rozdíly způsobené skladováním, typem zpracování, geografickým původem či agrotechnikou pěstování. Další výzkum bude soustředěn na: analýzu medů z roku 2016; vytipování vhodných markerů pro identifikaci řepkových medů a popis změn obsahu těkavých látek při technologickém zpracování medů (pastování, záhřev).

PODĚKOVÁNÍ

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016): A2_FPBT_2016_037. Autoři zároveň děkují společnosti Medokomerc s.r.o. za poskytnutí vzorků.

POUŽITÁ LITERATURA

1) Krauze A., Zalewski R. I.: Classification of honeys by principal component analysis on the basis of chemical and physical parameters. Z Lebenm Unters Forch, 192, 29-23 (1991).

2) Ruisinger B., Schieberle P.: Characterization of the Key Aroma Compounds in Rape Honey by Means of the Molecular Sensory Science Concept. J. Agric. Food Chem., 60, 4186-4194 (2012).

3) Kaškoniene V., Venskutonis P. R., Čeksteryte V.: Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. Food Chemistry, 111, 988-997 (2008).

4) Radovic B.S., Careri M., Mangia A., Musci A., Gerboles M., Anklam E.: Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. Food Chemistry, 72, 511-520 (2001).
5) Wardencki W., Chmiel T., Dymerski T., Biernacka P., Plutowska B.: Application of gas chromatography, mass spectrometry and olfactometry for quality assessment of selected food products. Ecological chemistry and engineerings, 16, 287-300 (2009).

P 3

BEEBREAD AS FOOD PRODUCT: MICROBIAL BACKGROUND, MICROSCOPIC AND SPECTROSCOPIC EVALUATION

Shevtsova T.[1], Bleha R.[1], Kyselka J.[2], Synytsya A.[1], Brindza J.[3], Brovarskyi V.[4], Filip V.[2]
[1)] Department of Carbohydrates and Cereals, [2)] Department of Dairy, Fat and Cosmetics, UCT Prague, Technická 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic;
[3)] Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic;
[4)] Department of Horse-Breeding and Beekeeping, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Polkovnyka Zatievakhina St., 8, Kyiv-03041, Ukraine

Abstract
In this work five samples of beebread were analysed by spectroscopic methods (FT MIR ATR, FT NIR, FT Raman and UV-Vis diffuse reflectance spectroscopies). Spectral differences were interpreted in terms of specific contribution of the main chemical constituents (proteins, phenolics, sugars etc.) and pigments (flavonoids, carotenoids). The morphometric analysis and microbial background of the beebread samples were also determined. The study expands the knowledge of original chemical composition of this bee product.

Keywords: beebread, chemical composition, spectra, microbiota, morphometry, marker

Introduction
The term beebread refers to the pollen collected by bees from plants and then stored in combs. The raw bee pollen is modified by lactic acid fermentation. As a result, the final product becomes more digestible and enriched with additional nutrients [1]. The pH level of fresh pollen is ~7.2, while in ‘mature’ beebread it decreases to 3.5–4.2, mainly as a result of lactic acid formation [2]. One benefit of this beekeeping product is its almost unlimited storability in comparison with raw pollen, which rapidly lost its nutritional values after drying or freezing.

Like any other beekeeping creation, beebread is a unique product – a natural, well-balanced, with diverse chemical content [2]. The chemical composition of beebread is determined by the raw flower pollen and varies according to botanic specie, geographic area and collection time. Knowing beebread pollen composition, it’s possible to determine the pollen producing plants in a particular region and its therapeutic and preventive effect. Generally, pollen, accumulated in beebread, becomes from the honey plants, although pollen of wind-pollinated herbaceous plants can also occur [3].

The quality of ready to consumption beebread determines by the technology of its extraction from the honeycomb, its further processing and conditions of storage. The aim of this study is evaluation and establishment of distinctions of morphological parameters of beebread granules, microbiota, chemical content and botanic origin of beebread collected from different habitats in Ukraine and also to define the relationship among them.

Materials and methods
Beebread samples were obtained from apiarists from selected regions of Ukraine (Poltava and Dnipropetrovsk) under the new patented technology developed by the research team of the Department of Horse-Breeding and Beekeeping at the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine in Kyiv. All beebread samples were defined as polyfloral (Fig. 1). Samples were placed in a refrigerator and conserved at –20°C.

Fig. 1 Investigated beebread samples

Morphometric analysis consisted in measuring the following parameters:

a) Beebread granule length and width in mm, n=30. Measurement was performed from the base to the apical part by digital caliper (Proteco, Czech Republic).

b) Beebread granule weight in mg, n=30 with analytical scales (Kern ADB-A01S05, Germany).

Microbial analysis of beebread samples were processed according to ČSN EN ISO 6887-1. All groups of microorganisms were determined under the conditions of the method according to recommended standards. The following groups of microorganisms were determined: total number of mesophilic aerobic microorganisms (ČSN EN ISO 4833), total number of yeasts and moulds (ČSN ISO 7594), total coliforms (ČSN ISO 4832), total number of *Lactobacillus* genus (ČSN 560094), total number of *Bifidus* genus (ČSN ISO 29981).

The composition of beebread was analysed by physicochemical methods and spectroscopically. Chemical analysis was realized in the Environment laboratory EL spol. s r.o., Spišská Nová Ves, Slovakia – Reg. No SNAS 038/S-025. The next chemical characteristics were determined: a) protein content – the Kjeldahl method; b) carbohydrate content – HPLC with refractive index detector; c) lipids, dry matter and ash content – gravimetric analysis; d) saturated fatty acids content – GC with flame ionisation detector; e) dietary fibre content – gravimetric analysis after enzymatic processing.

FT MIR, FT NIR (FT-IR spectrometer Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA)), FT Raman (FT Raman spectrometer Equinox 55/S (Bruker, USA)) and diffuse reflectance VIS (UV-Vis spectrophotometer UV4 (UNICAM, Great Britain)) spectra were measured and used to evaluate composition and colour of beebread samples. Methods of vibrational spectroscopy do not require pretreatment of the biological material. It is enough to make homogenate from a selected granule. All spectra were imported into a spreadsheet format for further processing using the software Origin 6.0 (Microcal Origin, USA). Descriptive statistics and Pearson's correlation analysis were used for evaluation of obtained values.

Results and discussion

Results of morphometric analysis of beebread samples are shown in Tables 1, 2 and 3.

Table 1 Total and internal sample variability of morphological parameters of beebread granules

Sample	Morphological parameter	n	$\bar{x}$	σ	min	max	V %
a	Weight (mg)	30	317.03	36.95	231.00	370.50	11.66
	Width (mm)		5.43	0.28	4.67	5.99	5.11
	Length (mm)		11.18	0.85	8.60	12.75	7.60
b	Weight (mg)	30	312.31	21.88	252.90	347.00	7.01
	Width (mm)		5.50	0.26	5.03	5.98	4.70
	Length (mm)		10.78	0.62	9.48	11.99	5.78
c	Weight (mg)	30	232.40	37.55	163.00	287.00	16.16
	Width (mm)		4.65	0.32	4.08	5.01	6.78
	Length (mm)		9.41	0.73	7.38	11.06	7.73
d	Weight (mg)	30	313.53	20.36	262.20	347.60	6.49
	Width (mm)		5.66	0.26	5.01	6.15	4.55
	Length (mm)		10.50	0.72	8.82	11.91	6.87

Sample	Morphological parameter	n	$\bar{x}$	σ	min	max	V %
e	Weight (mg) Width (mm) Length (mm)	30	307.26 5.73 10.67	16.32 0.26 0.69	271.70 5.16 9.26	346.80 6.22 12.66	5.31 4.52 6.45
total	Weight (mg) Width (mm) Length (mm)	150	296.51 5.39 10.51	42.54 0.47 0.93	163.00 4.08 7.38	370.50 6.22 12.75	14.35 8.78 8.88

n – number of granules; min – the minimum value; max – the maximum value; $\bar{x}$ – arithmetic mean; σ – standard deviation; V – coefficient of variation in %

Width and length of beebread granule are determined by stable width and length of the combs in honeycomb. Comb diameter is typically about 5.37 mm and the depth of it is 12 mm. Preservation of shape by granules of beebread (see Tab. 1) is good marker of applied technology of its extraction from the honeycombs. And this is the first step in processing of beebread for its final human consumption. Weight of beebread granule depends on the length of the comb in honeycomb construction more than on its width (see Tab. 2).

Table 2 Dependence between the estimated morphological parameters of the selected beebread samples by the Pearson correlation analysis

Correlated parameter	Weight (mg)	Width (mm)	Length (mm)
Weight (mg)	1.000	0.42 <.0001	0.87 <.0001
Width (mm)	0.42 <.0001	1.000	0.35 <.0001
Length (mm)	0.87 <.0001	0.35 <.0001	1.000

Results of microbial analysis of beebread samples are shown in Figure 2.

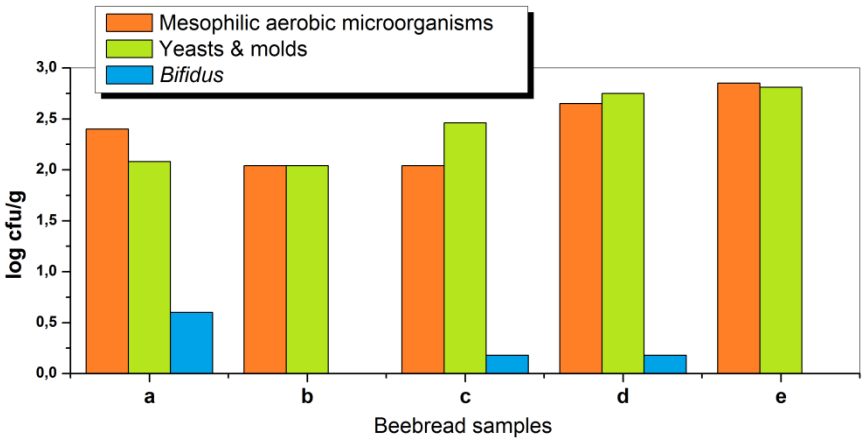


Fig. 2 Content of microorganisms in beebread samples (coliforms and *Lactobacillus* were not found)

Total number of microorganisms was in order 300 CFU.g^{-1} (2.4 log cfu/g) in all beebread samples. Samples showed also similar amounts of yeasts and moulds. The presence of coliforms and lactobacilli was not confirmed in any samples. Bifid bacteria were detected in very low quantity. Aerobic bacteria, coliforms, mould and yeast are contaminants. The presence of aerobic bacteria, mould and yeast are not undesirable but permissible probably due to content of flavonoids and high antimicrobial activity [2-4]. It's important to know the hygienic standards for the

microbiological content of beebread or beekeeping products. According to Campos *et al.* (2008) requirements, total aerobic plate count could not exceed 10^5 cfu/g, mould and yeast – $5 \cdot 10^4$ cfu/g for honey bee pollen [5]. To our knowledge, hygienic requirements for beebread are absent. Microbiological purity of any product is important. This is a marker of storage conditions.

Results of chemical composition of beebread samples are shown in Table 3 and Figures 3-4.

As can be seen from Tab. 3 content of protein is higher compare with lipids and carbohydrates. Protein is necessary for the nutrition of bees. Also beebread contains high amounts of dietary fiber. If compare composition of bee pollen (dried) and beebread, it can be seen that the protein, lipids and ash content are within the range of recommendations for bee pollen [5]. But beebread contains much more dietary fibre but less of carbohydrates.

Table 3 Total variability of the selected components of the beebread nutritional value

Component	SI	n	$\bar{x}$	σ	min	max	V %
Dry matter	g/100g	7	73.61	4.49	71.28	83.65	6.10
Protein	g/100g	7	16.90	2.41	13.99	20.03	14.24
Lipids	g/100g	7	7.03	0.60	6.48	8.32	8.48
Saturated fatty acids	g/100g	7	2.88	0.88	1.74	3.91	30.48
Ash	g/100g	7	2.87	0.72	2.16	4.31	24.91
Dietary fibre	g/100g	7	38.26	5.63	26.43	43.75	14.70
Carbohydrates	g/100g	7	8.54	5.58	2.09	17.03	65.26

n – number of samples; min – the minimum value; max – the maximum value; $\bar{x}$ – arithmetic mean; σ – standard deviation; V – coefficient of variation in %

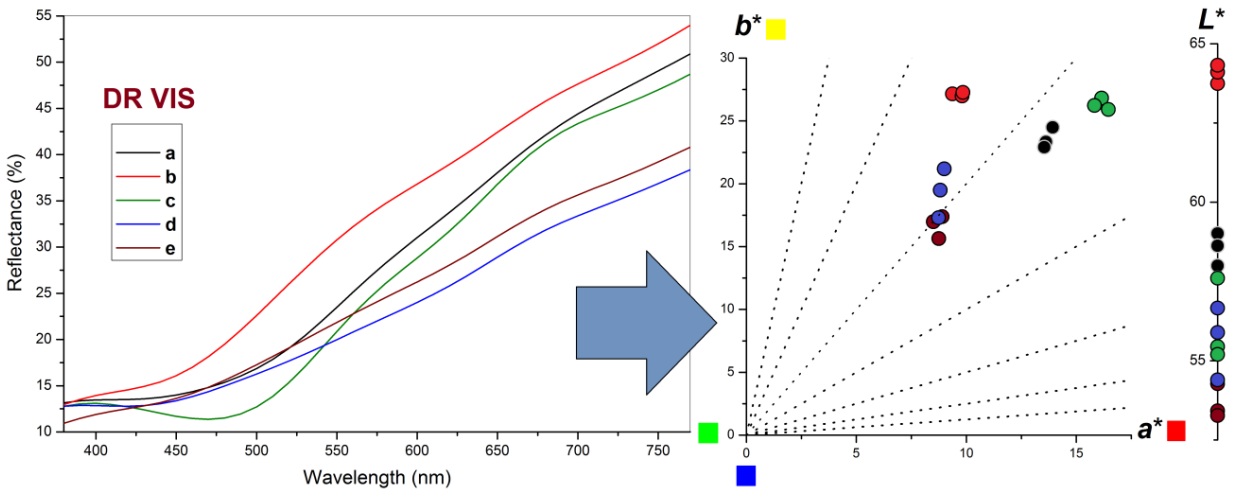


Fig. 3 DR VIS spectra and colour diagram of beebread samples

Spectroscopic analyses confirmed differences in composition and colour of beebread (Figs 3-4). Water, proteins, amino acids, lipids, aromatics and carbohydrates are the base of beebread. Fructose from nectar was detected in all the samples, carotene only in two of them (c and a, see Fig. 4). Carotene thus could be a chemical marker of botanical origin because only specific pollens contain it. Colour of plant products depends on the content and ratio of pigments – carotenoids and flavonoids. The colour diagram (Fig. 3, right) confirms that beebread samples are reddish yellow. It can be supposed that such beebread consists of pollen with high content of flavonoids. However, samples c and, at lesser extent, a have a significant contribution of the red hue that could be explained by the presence of carotenes.

Conclusions

Beebread samples are described by stable shape of granules, moreover it keeps during storage through at least six months. Also beebread samples are characterized by acceptable microbiological quality. FTIR and FT Raman spectra confirm diversity of chemical composition of beebread. These methods are sensitive to differences in chemical composition of the samples. Beebread should be in the diet of each person.

Acknowledgement

This work was supported by specific university research (MŠMT No 20/2015, 20-SVV/2016), project KvaLab (FT Raman) and by International Visegrad Fund (No. 51501111 within the V4EaP Scholarship Program project for mobility of Tetiana Shevtsova).

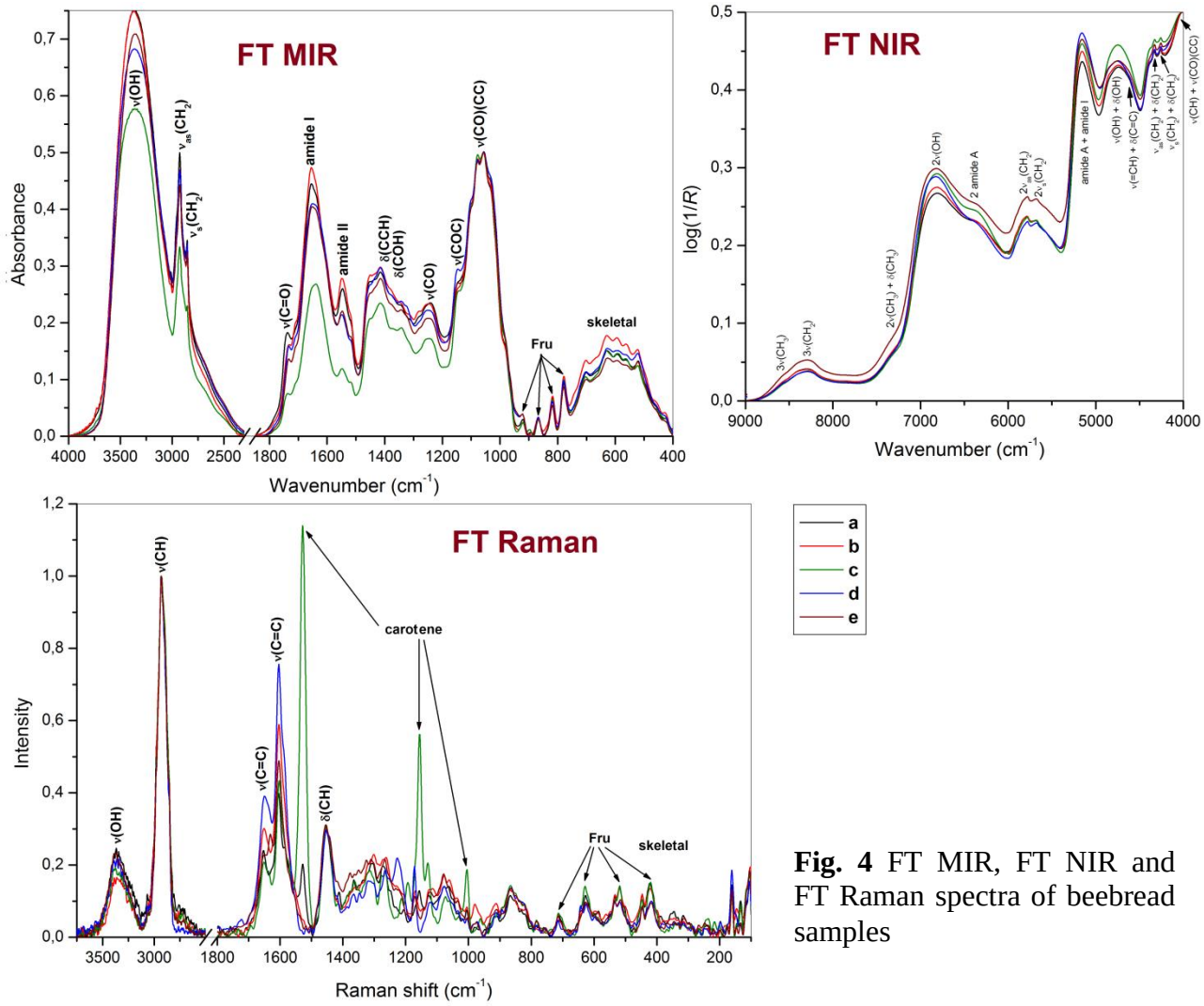


Fig. 4 FT MIR, FT NIR and FT Raman spectra of beebread samples

References

[1] Akhmetova R., Sibgatullin J., Garmonov S., Akhmetova L. (2012): Technology for extraction of bee-bread from the honeycomb. Procedia Engineering 42, 1822-1825.

[2] Isidorov V.A., Isidorova A.G., Sczczepaniak L., Czyżewska U. (2009): Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of the chemical composition of beebread. Food Chemistry 115(3), 1056-1063.

[3] Wroblewska A., Warakomska Z., Kaminska M. (2010): The pollen spectrum of bee bread from the Lublin region (Poland). Journal of Apicultural Science 54(2), 81-89.

[4] Ivanišová E., Kačániová M., Frančáková H., Petrová J., Hutková J., Brovarskyi V., Velychko S., Adamchuk L., Schubertová Z., Musilová J. (2015): Bee bread – perspective source of bioactive compounds for future. Potravinarstvo (9)1, 592-598.

[5] Campos M.G.R., Bogdanov S., Bicudo de Almeida-Muradian L., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio CH., Ferreira F. (2008): Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research and Bee World, 47(2), 156-163.

P 4

VYUŽITÍ TECHNIKY DART/TOF-MS PRO HODNOCENÍ KVALITY A AUTENTICITY KAKAOVÝCH VÝROBKŮ

Prchalová J.[1], Dvořáková Z. [1], Kovařík F. [1], Rajchl A.[1]

[2)] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav konzervace potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

Kakao se získává z plodu kakaovníku pravého (*Theobroma cacao* L.) a patří díky své jedinečné chuti a aroma k nejpopulárnějším pochutinám na světě. Kakao se používá k výrobě různých potravin, jako čokolády, nápojů, pekařských náplní atd.. Chemické složení kakaa závisí zejména na odrůdě kakaovníku, pěstebních a klimatických podmínkách. Kakao obsahuje bílkoviny, tuky, vlákninu, minerální látky atd., důležitý je ale v kakau obsah methylxantinů (theobrominu a kofeinu), které tvoří 1-2 % sušiny kakaa. Bioaktivními látkami kakaa jsou zejména methylxantiny (theobromin a kofein) a fenolové látky (fenolové kyseliny, 3-flavanoly, flavonoly, anthokyany, deriváty hydroxyskořicové kyseliny, stilbeny atd.).[1]

Kakaový prášek je definován dle vyhlášky 76/2003 Sb. jako potravina získaná z pražených kakaových bobů zbavených slupek, upravených do formy prášku, obsahující nejméně 20 % kakaového másla v sušině a nejvýše 9 % vody.[2] Z důvodu vysoké ceny kakaa je tato komodita často předmětem falšování, zaznamenány jsou pokusy nahradit kakaovou sušinu levnými náhražkami, např. sacharózou, mletými plody karobu, pomletými slupkami kakaovníku apod. Dalším možným způsobem falšování je náhrada kakaového másla jinými tuky rostlinného původu. Při hodnocení kvality kakaa se používají následující markery: obsah tukuprosté kakaové sušiny, vlhkost, obsah a složení kakaového másla, profil minerálních látek, pH, barva apod.[3]

V současné době je využíváno mnoho metod pro hodnocení kakaových výrobků, např. plynová a kapalinová chromatografie aj., přičemž tyto techniky jsou často náročné z časového a finančního hlediska.[4] Vhodnou alternativou těchto metod pro hodnocení kvality a autenticity kakaa a výrobků z něj může být technika DART (Direct Analysis in Real Time). Výhodou techniky DART je krátká doba analýzy a možnost analýzy i složitějších směsí bez předchozí úpravy.[5]

Cíle práce

Cílem této práce byl vývoj, optimalizace a validace metody přímé analýzy v reálném čase ve spojení s TOF-MS, za účelem získání metabolomického profilu látek přítomných v kakau a kakaových produktech. Následujícím cílem bylo, porovnání obsahu methylxantinů metodou DART/TOF-MS a HPLC/UV.

Vzorky

Analyzováno bylo 29 vzorků kakaových výrobků (17 vzorků kakaa a 12 kakaových nápojů), které byly dostupné v obchodní síti České republiky.

Příprava vzorků kakaových výrobků pro metodu DART/TOF-MS

Byly naváženy 2 g kakaa nebo kakaového nápoje, které byly rozpuštěny v 50 ml demineralizované vody a doplněny po rysku. Takto připravené vzorky byly použity pro analýzu metodou DART/TOF-MS. Každý vzorek byl analyzován ve čtyřech opakováních.

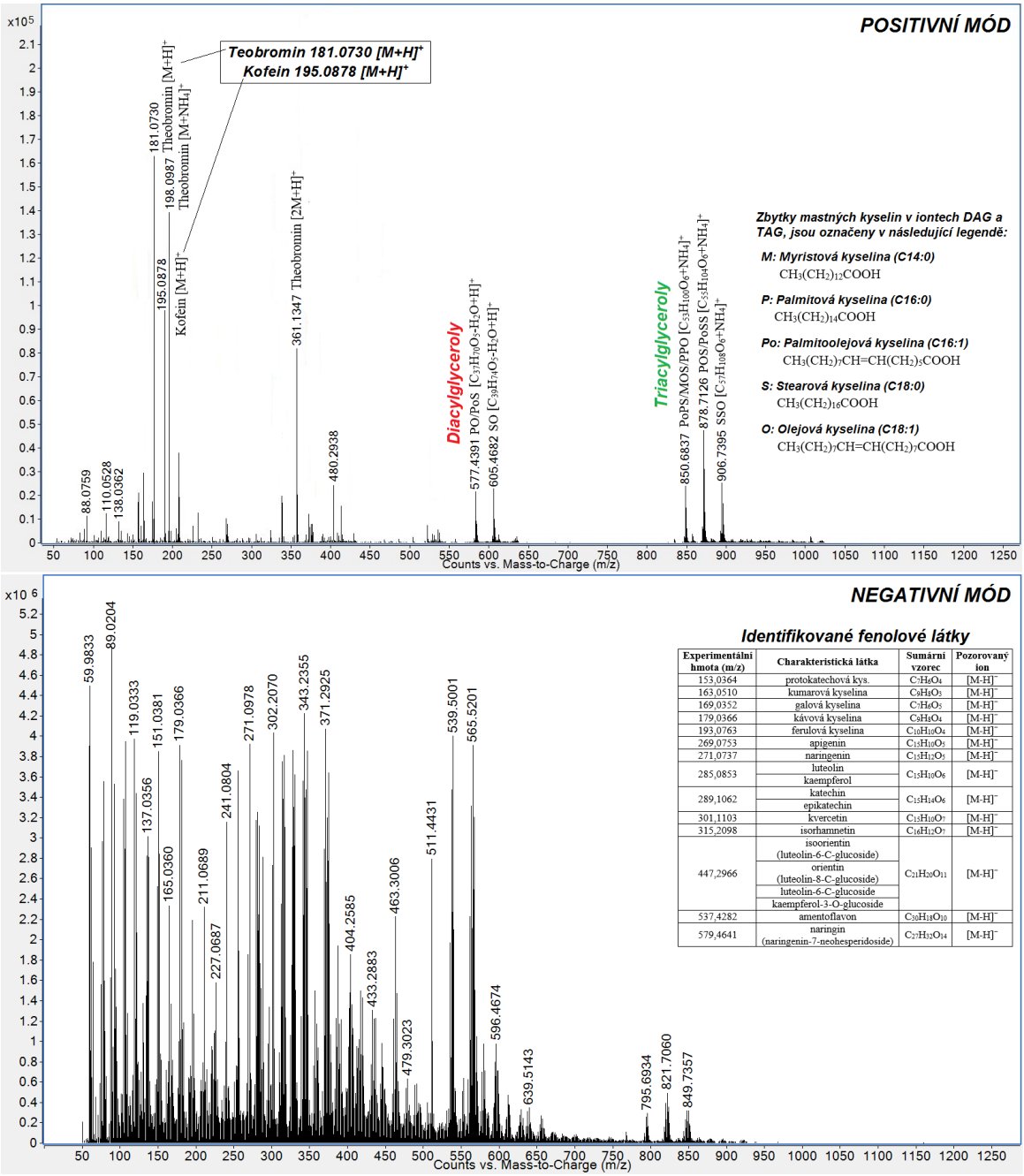
Příprava vzorků kakaových výrobků pro metodu HPLC/UV

Byly naváženy 0,5 g kakaa nebo 1 g kakaového nápoje, které byly rozpuštěny v 50 ml destilované vody. Následně byl roztok přefiltrovaná přes PTFE mikrofiltr (0,45µm). Takto připravený roztok byl analyzován HPLC.

Podmínky stanovení: Kolona: Phenomenex, Luna 5µ C18(2) 100A (250 mm × 4,6 mm), teplota na koloně: 25 °C, mobilní fáze: 30% methanol, průtok: 1 ml/min, nástřik: 20 µl, vlnová délka: 280 nm, doba analýzy: 15 min.

Výsledky a diskuze

Technika DART/TOF-MS byla použita pro rychlý screening analyzovaných kakaových výrobků (kakaa a kakaové nápoje) a byly optimalizovány tyto podmínky pro jejich analýzu: měřící mód, ionizační teplota a volba extrakčního činidla. Jako optimální byly stanoveny: positivní i negativní mód, ionizační teplota 350 °C, extrakční činidlo – demineralizovaná voda. Kakaa a kakaové nápoje byly měřeny při ionizační teplotě 350 °C v positivním a negativním módu, které poskytovaly bohaté spektrum obsahující charakteristické ionty příslušejících látek obsažených v kakaových produktech.



Identifikované fenolové látky

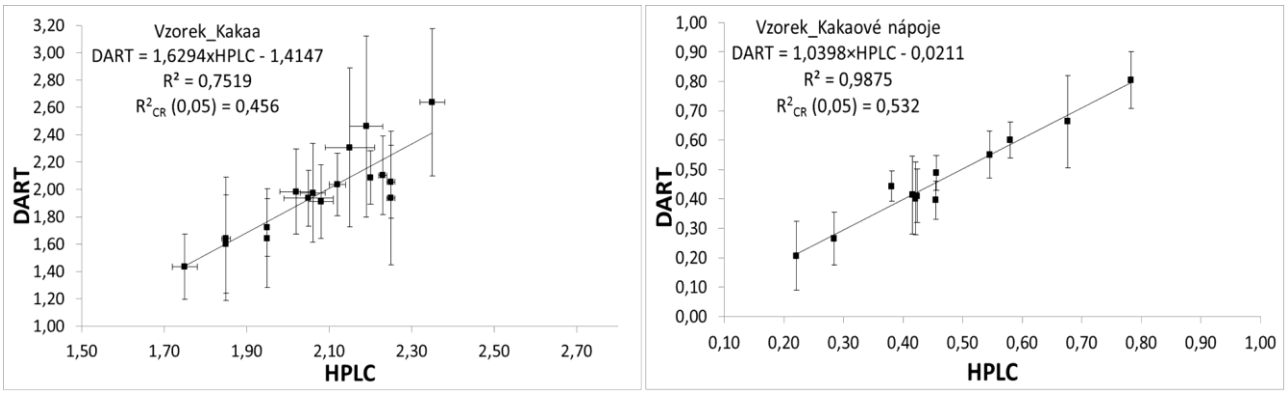
Experimentální hmota (m/z)	Charakteristická látka	Sumární vzorec	Pozorovaný ion
153,0364	protokatechová kys.	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$
163,0510	kumarová kyselina	$C_9H_8O_3$	$[M-H]^-$
169,0352	galová kyselina	$C_7H_6O_5$	$[M-H]^-$
179,0366	kávová kyselina	$C_9H_8O_4$	$[M-H]^-$
193,0763	ferulová kyselina	$C_{10}H_{10}O_4$	$[M-H]^-$
269,0753	apigenin	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$
271,0737	naringenin	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$
285,0853	luteolin	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M-H]^-$
	kaempferol		
289,1062	katechin	$C_{15}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$
	epikatechin		
301,1103	kvercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M-H]^-$
315,2098	isorhamnetin	$C_{16}H_{12}O_7$	$[M-H]^-$
447,2966	isoorientin (luteolin-6-C-glucoside)	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$
	orientin (luteolin-8-C-glucoside)		
	luteolin-6-C-glucoside		
	kaempferol-3-O-glucoside		
537,4282	amentoflavon	$C_{30}H_{18}O_{10}$	$[M-H]^-$
579,4641	naringin (naringenin-7-neohesperidoside)	$C_{27}H_{32}O_{14}$	$[M-H]^-$

Obr. č. 1 - MS spektra kakaa, mód (positivní, negativní), ionizační teplota 350 °C

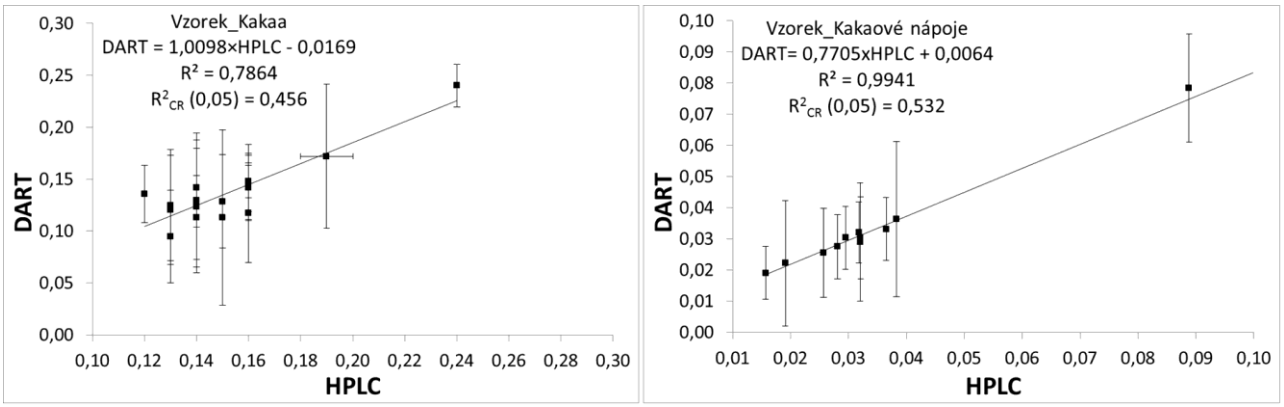
Na obrázku č. 1 jsou uvedena hmotnostní spektra (positivní a negativní mód) vzorku kakaa. V hmotnostních spektrech kakaových výrobků byly pozorovány ionty látek s hodnotou m/z odpovídající methylxantinům (m/z 181,0730 theobrominu a m/z 195,0870 kofeinu), tri-/di-acylglycerolům a fenolovým látkám. Z triacylglycerolů byly zastoupeny především PoPS/MOS/PPO o m/z 850,6837; POS/PoSS o m/z 878,7126 a SSO o m/z 906.7395 (vysvětlení zkratek viz Obr. č.1). Ve spektru byly pozorovány také ionty diacylglycerolů a to PO/PoS o m/z

577,4391 a SO o m/z 605,4682. Charakteristické ionty o m/z odpovídajícím fenolovým kyselinám, 3-flavanolům, flavonolům, anthokyanům, derivátům hydroxyskořicové kyseliny, stilbenů jsou uvedeny v Obr. č. 1 (negativní mód).

Pro stanovení theobrominu a kofeinu bylo proměřeno 17 vzorků kakaa a 12 vzorků kakaových nápojů. Obsah theobrominu a kofeinu v kakaových výrobcích byl kvantifikován metodou DART/TOF-MS a naměřené hodnoty byly porovnány metodou HPLC/UV. Výsledky stanovení teobrominu a kofeinu z DART/TOF-MS a HPLC/UV metod korelují (viz Obr. č. 2 a 3).



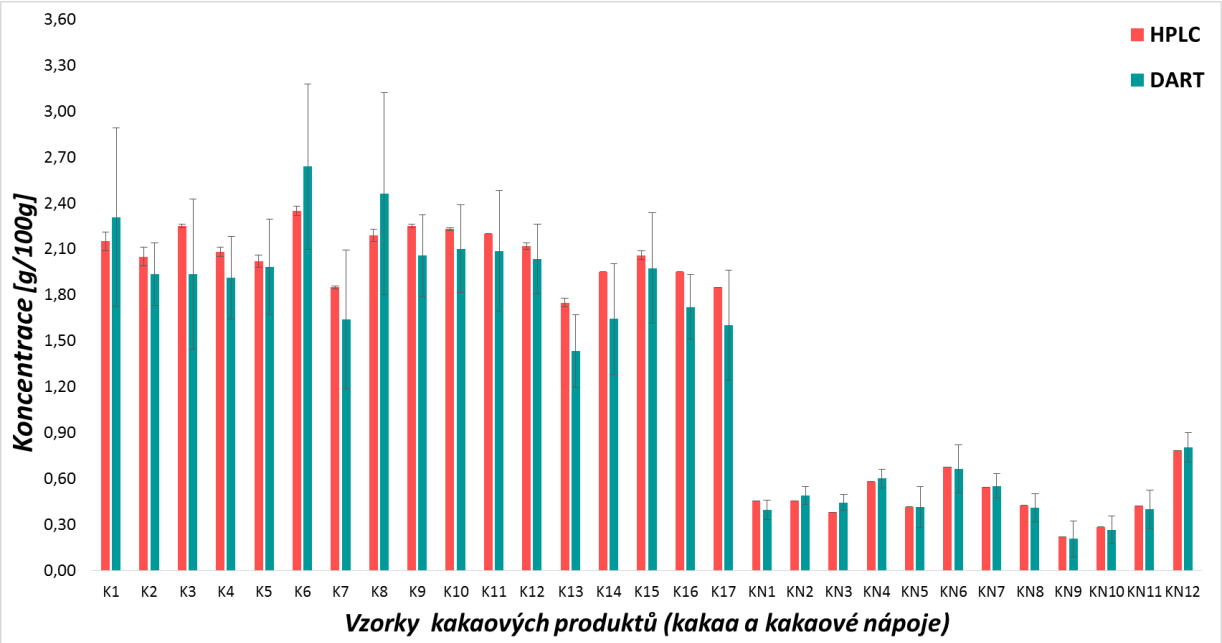
Obr. č. 2 - Korelace teobrominu metodou HPLC a DART u vzorků kakaa (vlevo) a kakaových nápojů (vpravo)



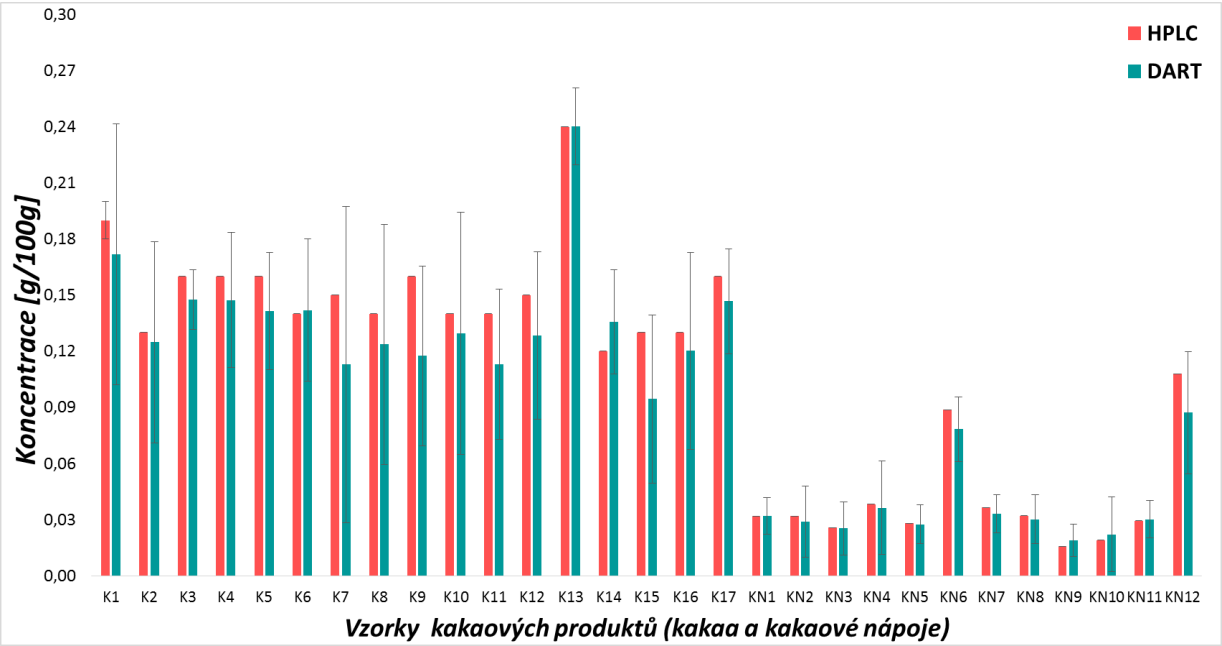
Obr. č. 3 - Korelace kofeinu metodou HPLC a DART u vzorků kakaa (vlevo) a kakaových nápojů (vpravo)

Na obrázku č. 4 a 5 jsou uvedeny obsahy (v g/100 g) theobrominu a kofeinu obsažených ve vzorcích kakaa a kakaových nápojů.

Theobromin v kakau a kakaových nápojích byl přítomný v množství od 0,2 do 2,4 g/100 g (viz Obr. č. 4). Kofein v kakau a kakaových nápojích byl přítomný v množství od 0,01 do 0,25 g/100 g (viz Obr. č. 5). Semi-kvantitativní stanovení technikou DART/TOF-MS bylo zatíženo vysokou nejistotu měření, kterou by bylo možno podstatně snížit s použitím izotopově značeného vnitřního standardu.



Obr. č. 4 – Srovnání obsahu theobrominu v kakaových produktech metodou HPLC a DART



Obr. č. 5 - Srovnaní obsahu kofeinu v kakaových produktech metodou HPLC a DART

Závěr

Z experimentální části vyplynulo, že pro analýzu kakaových výrobků jsou optimální tyto podmínky: positivní i negativní měřící mód, ionizační teplota 350 °C, extrakční činidlo demineralizovaná voda.

Technika DART/TOF-MS byla použita pro rychlý screening následujích sloučenin obsažených v kakau a kakaových nápojích: theobrominu, kofeinu, sacharidů, tri-/di-acylglycerolům, fenolových a flavonoidních látek.

Technika DART/TOF-MS má značný potenciál pro hodnocení kvality a autenticity kakaových produktů a ukázala se jako účinný nástroj pro selekci podezřelých vzorků. Tato technika také ukazuje potenciální využití pro semi-kvantitativní stanovení sloučenin theobrominu a kofeinu obsažených v kakaových výrobcích.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2016): A1_FPBT_2016_002.

Seznam použité literatury

1. Cádiz-Gurrea, M. L.; Lozano-Sanchez, J.; Contreras-Gámez, M. Legeai-Mallet, L.; Fernández-Arroyo, L. S.; Segura-Carretero, A. Isolation, comprehensive characterization and antioxidant activities of Theobroma cacao extract. Journal of Functional Foods**, 2014**, 10, 485-498.

2. Vyhláška č. 76/2003 Sb., ČR, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony.

3. ČSN 56 0578. Čokoláda a čokoládové cukrovinky - Stanovení obsahu tukuprosté kakaové sušiny, **2000**.

4. Hajšlová, J.; Čajka, T.; Václavík, L. Challenging applications offered by direct analysis in real time (DART) in food-quality and safety analysis. Trends in Analytical Chemistry, **2011**, 30, 204-218.

5. Bertoldi, D.; Barbero, A.; Camin, F.; Caligiani, A.; Larcher, R. Multielemental fingerprinting and geographic traceability of Theobroma cacao beans and cocoa products. Food Control, **2016**, 65, 46-53.

P 5

CHEMICKÁ A SMYSLOVÁ CHARAKTERISTIKA AROMA JAHODOVÝCH SIRUPŮ

Kružík V. [1], Helísková H. [1], Brožová E. [1], Průchová K. [1], Grégrová A. [1], Čížková H. [1]
1) Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Jahodové aroma vyskytující se v jahodových sirupech může být přírodního (jako součást ovocné složky výrobku nebo přidané ve formě přírodního aroma) nebo syntetického původu. Enantioselektivní separace chirálních aroma aktivních látek je užitečným nástrojem k získání informací o kvalitě a jakosti potravinářských produktů a v kombinaci s olfaktometrickým detektorem (Es-GC-O/MS) může být použita pro určení senzorických vlastností a odlišností jednotlivých enenatiomerů přírodního i syntetického původu. Cílem práce bylo vypracování chemické a smyslové charakteristiky aroma jahodových sirupů dostupných na tuzemském trhu.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Analyzované vzorky: 14 komerčně dostupných jahodových sirupů (různé kombinace ovocného podílu, přírodního a syntetického aroma)

Těkavé látky: SPME (DVB/CAR/PDMS), Es-GC/MS (plynový chromatograf 7890 A, detektor 5975 C MSD, Agilent Technologies) a Es-GC-O/MS (plynový chromatograf 7890 B, Agilent Technologies; olfaktometrický detektor, JAS); chirální kolona (ChiraSil-DEX CB 25 m x 0,25 mm x 0,25 µm);

GC-O: aroma aktivní látky byly detekovány panelem čtyř hodnotitelů z Ústavu konzervace potravin VŠCHT Praha ve věku 21, 21, 28 a 29 let, a to metodou detekce frekvence s následným odhadem intenzit společně s popisem charakteristické vůně eluované sloučeniny; olfaktometrie byla provedena u 2 vybraných vzorků sirupů.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Detekce klíčových senzoricky aktivních látek

Plynová chromatografie s olfaktometrickým detektorem byla použita pro detekci senzoricky aktivních látek podílejících se na aroma jahodových sirupů. Identifikované látky, jejich charakteristika a obsah v jednotlivých vzorcích jsou uvedeny v tabulce č. 1. Příklad aromagramu je uveden na obrázku 1. Bylo zjištěno, že na celkovém aroma profilu analyzovaných vzorků se podílejí převážně estery (etylbutanoát, etyl-2-metylbutanoát, etylhexanoát, metyl-2-metylbutanoát), které přispívají svojí ovocnou, sladkou, jahodovou vůní; laktony (γ-dekalakton - vykazující sladkou, ovocnou vůni po jahodách nebo broskvích), alkoholy, zejména 3-hexenol s vůní po trávě a kyseliny přispívající svým charakteristickým aroma (zastoupeny kyselinou hexanovou). Pomocí chirální kolony bylo možné zkoumat charakteristické pachové vlastnosti jednotlivých enantiomerů vyskytujících se ve vzorcích převážně v racemické směsi.

Zároveň byla nalezena pozitivní korelace celkového obsahu těkavých látek, obsahu γ-dekalaktonu a etyl-2-metylbutanoátu se senzorickým hodnocením sirupů (tj. posouzením celkového pozitivního dojmu a jahodové vůně)[3].

Průkaz přírodního původu jahodového aroma

S cílem prokázat přídavek syntetického aroma do jahodových sirupů byla pro analýzu chirálních sloučenin využita enantioselektivní plynová chromatografie s hmotnostním detektorem. V souladu s literárními údaji byly identifikovány vhodné markery pro průkaz autenticity jahodových sirupů, a to γ-dekalakton, etyl-2-metylbutanoát a 2-metylbutanová kyselina (viz Tab.

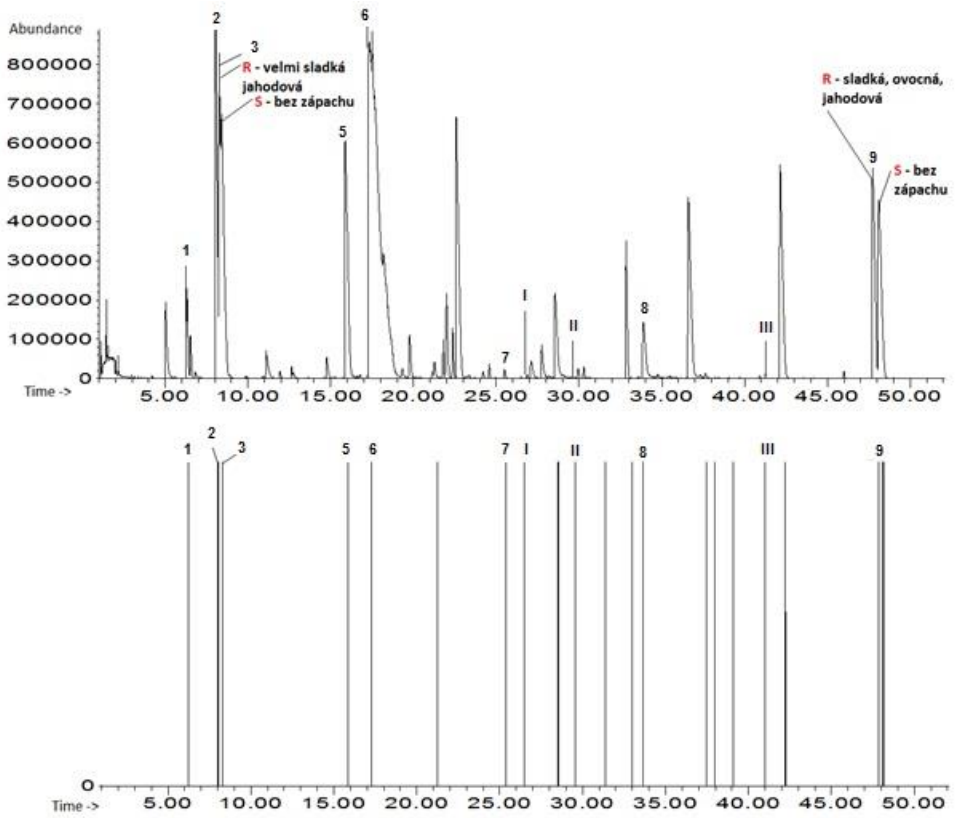
2). Bylo potvrzeno, že převaha jednoho z enantiomerů indikuje přídavek jahod nebo přírodního aroma a racemická směs obou enantiomerů značí přídavek aroma syntetického.

U třinácti ze čtrnácti vzorků jahodových sirupů výrobci deklarovali přídavek aroma, přičemž u sirupu č. 1 Grünhof byl deklarován přídavek přírodního aroma. Na základě poměru jednotlivých enantiomerů byl v sirupu č. 1 zjištěn výskyt γ-dekalaktonu, etyl-2-metylbutanoátu a 2-metylbutanové kyseliny téměř v racemické směsi, což naznačuje, že sirup byl dochucen přídavkem syntetického aroma bez řádné deklarace této skutečnosti na etiketě výrobku.

Tabulka 1: Aroma aktivní látky ve vzorcích sirupů 1-14

			Plochy látek ve vzorcích sirupů[b]													
Ozna-čení	**Látka**	**Popis vůně[a]**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**
1	Etylbuta-noát	sladká, jahodová, ovocná, svěží	10	25	< 1	26	1	2	36	1	15	nd	21	8	21	< 1
2	Metyl-2-metylbu-tanoát	sladká ovocná, jahodová	nd	11	nd	52	nd	nd	nd	nd	22	nd	43	nd	nd	nd
3	Etyl-2-metylbu-tanoát	sladká jahodová, svěží	78	17	< 1	30	18	7	18	12	23	10	28	20	26	13
4	Etyl-3-metylbu-tanoát	sladká, jahodová, ovocná	nd	nd	nd	nd	nd	nd	21	8	nd	nd	nd	20	40	nd
5	Etylhe-xanoát	sladká, ovocná, svěží až mentolová	< 1	152	1	17	2	21	18	3	41	27	3	23	23	70
6	3-hexenol	travnatá, jarní, lesní, houbová	137	94	nd	nd	117	143	46	62	116	nd	32	112	57	nd
7	3-hexenyl-butanoát	sladká, ovocná	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1	1	nd	1	nd	4
8	Kyselina hexanová	travnatá, jehličnanová, čajová	11	7	nd	3	6	nd	6	4	5	2	1	6	6	nd
9	γ-dekalak-ton	sladká, jahodová, ovocná	46	25	1	40	22	11	16	17	29	13	6	26	14	14
I	Nedete-kovaná GC-MS	těžká, sladká vůně	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
II	Nedete-kovaná GC-MS	hlína, dřevitá, nepříjemná	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
III	Nedete-kovaná GC-MS	maková, sladká	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
IV	Nedete-kovaná GC-MS	broskvová, ovocná	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

[a] popis vůně panelem čtyř hodnotitelů; [b] plochy látek byly pro přehlednost výsledků vyděleny milionem; nd = nedetekováno



Obr. 1: Porovnání profilu těkavých látek získaných pomocí Es-GC-O/MS analýzy (nahoře) a aromagramu senzoricky aktivních látek získaného hodnotitelem č. 1 pomocí GC-O metody detekce frekvence (dole) pro sirup č. 9 (čísla odpovídají označení látek v tabulce výše; neoznačené píky byly detekovány pouze jedním hodnotitelem a jsou považovány za šum)

Tabulka 2: Zastoupení vybraných enantiomerů v sirupech pro průkaz původu aroma

Enantiomerní zastoupení jednotlivých enantiomerů v sirupech			**γ-dekalakton**		**Etyl-2-metylbutanoát**		**2-metylbutanová kyselina**	
			Enantiomerní poměr (%)[a]		Enantiomerní poměr (%)[a]		Enantiomerní poměr (%)[a]	
Sirup	Obsah jahod (% hm)	Přídavek přírodního/ synt. aroma	(R)-(+)	(S)-(-)	(R)-(-)	(S)-(+)	(S)-(+)	(R)-(-)
1	30,0	+/-	56,7	43,3	31,8	68,2	68,4	31,6
2	10,0	-/+	53,9	46,1	39,2	60,8	38,8	61,2
3	12,0	ND	100,0	0,0	0,0	100,0	nd	nd
4	0,5	-/+	70,1	29,9	19,8	80,2	63,1	36,9
5	1,0	-/+	58,1	41,9	46,4	53,6	41,8	58,2
6	20,0	-/+	89,8	10,2	48,1	51,9	nd	nd
7	15,0	-/+	51,5	48,5	27,8	72,2	45,3	54,7
8	4,8	-/+	52,3	47,7	34,5	65,5	70,4	29,6
9	20,0	-/+	56,1	43,9	30,9	69,1	100,0	0,0
10	ND	-/+	56,1	43,9	48,2	51,8	46,2	53,8
11	ND	-/+	53,0	47,0	38,6	61,4	64,0	36,0
12	20,0	-/+	50,4	49,6	31,4	68,6	67,4	32,6
13	20,0	-/+	50,1	49,9	24,0	76,0	55,7	44,3
14	10,0	-/+	54,7	45,3	45,8	54,2	28,3	71,7
Přírodní jahodové aroma [1,2]			97,0-100,0	0,0-3,0	0,0-8,4 (nebo nd)	91,6-100,0 (nebo nd)	100,0 (nebo nd)	0,0 (nebo nd)
Syntetické jahodové aroma [1,2]			49,6-70,1	29,9-50,4	34,6-40,2	59,8-65,4	48,6 (nebo nd)	51,4 (nebo nd)

ND = nedeklarováno; nd = nedetekováno; [a] enantiomerní poměr u dané látky vypočítaný z poměrů ploch

ZÁVĚR

Kombinovaná Es-GC-O/MS metoda se dle výsledků jeví jako účinná technika pro odhalení aroma profilu jednotlivých vzorků a průkaz přídavku syntetického jahodového aroma do ovocných sirupů, olfaktometrie v kombinaci s chirální kolonou zároveň poskytuje cenné informace o charakteristických pachových vlastnostech jednotlivých enantiomerů. V dalším kroku výzkumu bude srovnání výsledků instrumentální analýzy se senzorickým testováním výrobků a budou vytipovány látky (případně jejich degradační produkty), které (případně) přispívají k méně žádoucí (atypické, trávové, terpenické) vůni výrobku.

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2016): A1_FPBT_2016_002.

LITERATURA

1. Helísková H.: *Analýza fingerprintů těkavých látek pro posouzení kvality potravinářských výrobků*. Praha, 2016. Diplomová práce. VŠCHT Praha, FPBT, Ústav konzervace potravin.
2. Kreck M. et al.: Eur Food Res.Technol. 2001, 213(4): 389-94.
3. Gregrova A. et al.: *Quality control of strawberry flavoured syrups based on analysis of volatile compounds*. Presented at RAFA 2016, Prague.
4. d'Acampora Zellner B et al.: J Chromatogr A. 2008, 1186(1-2): 123-43.
5. Du X et al.: J Agric Food Chem. 2011, 59(23): 12569-77.
6. Nuzzi M et al.: Food Anal Methods. 2008, 1(4): 270-82.
7. Ducruet V et al.: J Agric Food Chem. 2001, 49(5): 2290-7.
8. Siegmund B et al.: J Agric Food Chem. 2001, 49(7): 3244-52.
9. Schipilliti L et al.: J Chromatogr A. 2011, 1218(42): 7481-6.
10. Ravid U et al.: Flavour Frag J. 2010, 25(1): 20-7.

P 6

ZMĚNY TĚKAVÝCH LÁTEK BĚHEM VÝROBY JABLEČNÝCH KONCENTRÁTŮ

Haubeltová A.[1], Tuma P.[1], Ševčík R.[1], Čížková H.[1]
Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

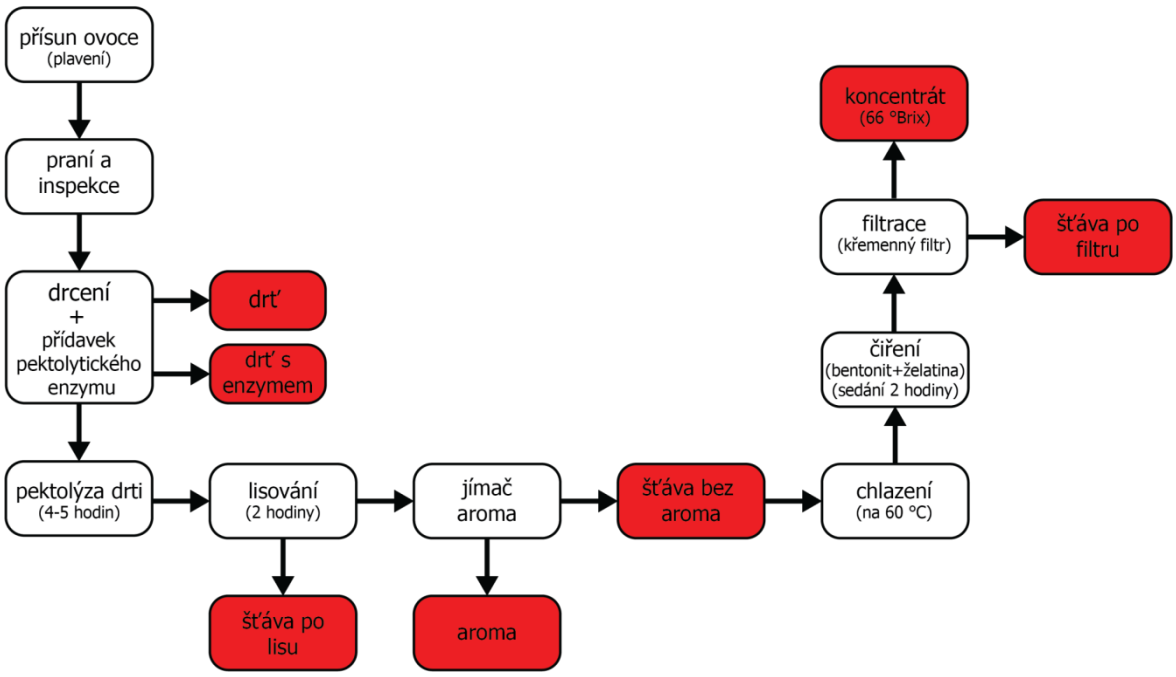
K charakteristické vůni a chuti jablečné šťávy nejvíce přispívají vybrané estery organických kyselin (např. butyl acetát, ethyl butanoát, hexyl acetát) a aldehydy a alkoholy s 6 uhlíky (hexanal, 2-hexenal, hexanol a 2-hexenol). Složky jablečného aroma jsou přirozeně proměnlivé. Jejich obsah a zastoupení je dán primárně použitou odrůdou (za nejvhodnější jsou považovány Golden Delicious, Red Delicious, Discovery, Granny Smith a Jonathan) a vyzrálostí plodů. Na obsah a zastoupení těkavých látek ve finálním výrobku mají však vliv také podmínky zpracování [1]. Zhodnocením faktorů ovlivňujícím změny těkavých látek během výroby jablečných koncentrátů je věnována tato práce. Fázové odběry 4 řad vzorků probíhaly ve výrobním podniku během celé zpracovatelské sezony 2015.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Vzorky

V rámci studie byly analyzovány celkem 4 řady vzorků. Každá řada obsahovala celkem 7 vzorků, a to drť jablek, drť jablek s enzymem, šťáva po lisu, šťáva po filtru, aroma, šťáva bez aroma a koncentrát. Fáze procesu, ve kterých byly jednotlivé vzorky odebírány, jsou v níže uvedeném Schématu procesu zvýrazněny červeně.

SCHÉMA PROCESU VÝROBY JABLEČNÉHO KONCENTRÁTU A ODEBÍRANÉ VZORKY [2,3]



Příprava vzorků
Stanovení těkavých látek metodou SPME/GC/MS – do 10 ml vialky bylo naváženo 1,5 g NaCl + g vzorku + 3 g destilované vody
Stanovení rozpustné sušiny – přímé stanovení vzorku bez úpravy
Stanovení titrační kyselosti – přímé stanovení vzorku bez úpravy

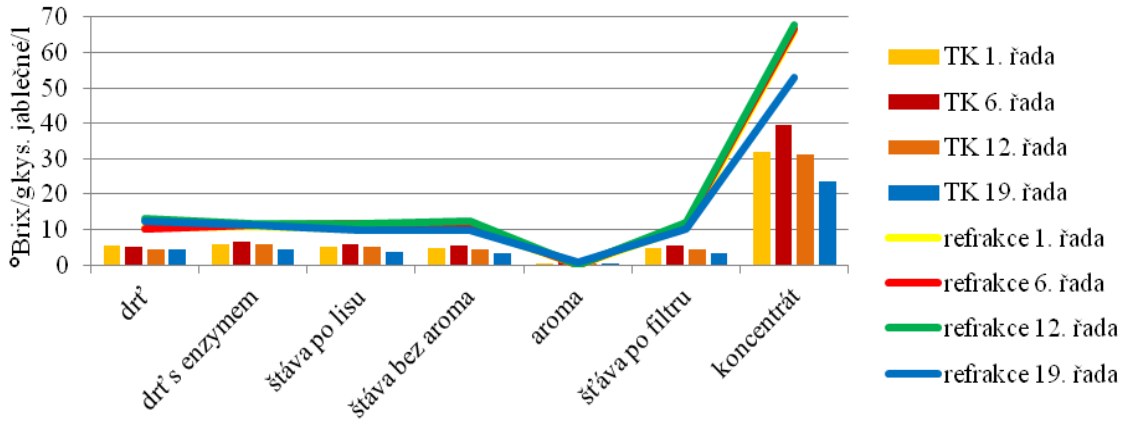
Metody měření
Stanovení těkavých látek metodou SPME/GC/MS [4]
Chromatografické podmínky:
- kolona: DB-5MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm)
- teplotní program: výdrž 60 °C / 2 min
  nárůst 10 °C / min do 250 °C
- teplota MS detektoru: 250 °C
- mobilní fáze: helium, průtok 1,2 ml/min

Podmínky extrakce SPME:
- SPME vlákno 50/30 µm 24 Ga DVB/CAR/PDMS
- doba extrakce: 1800 s
- teplota extrakce: 30 °C
- doba desorpce: 120 s

Stanovení rozpustné sušiny [5]: Refraktometrické stanovení (na základě indexu lomu).
Stanovení titrační kyselosti [6]: Stanovení pomocí potenciometrické titrace standardním roztokem NaOH do pH 8,1.

VÝSLEDKY

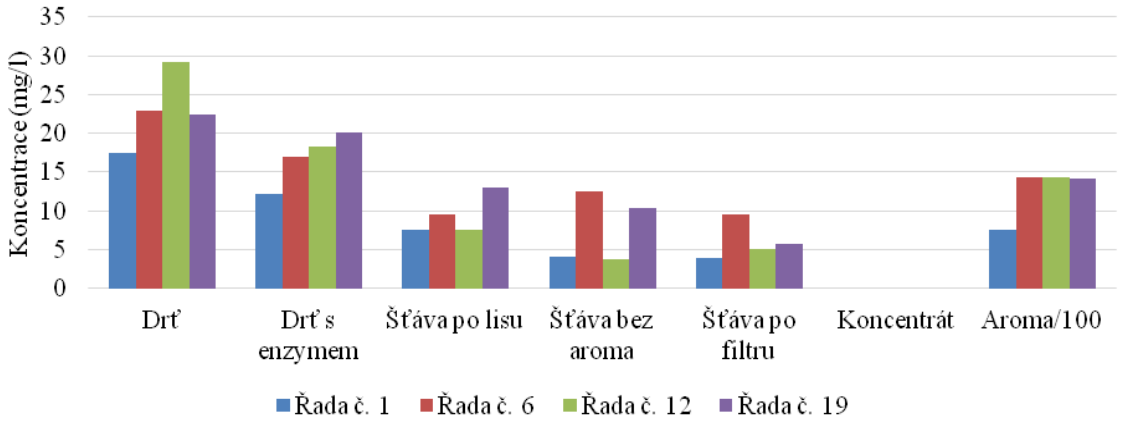
Měřením refraktometrické sušiny a titrační kyselosti bylo potvrzeno, že refraktometrická sušina během období sklizně narůstá, naopak titrační kyselost v období sklizně klesá (Obr. 1).



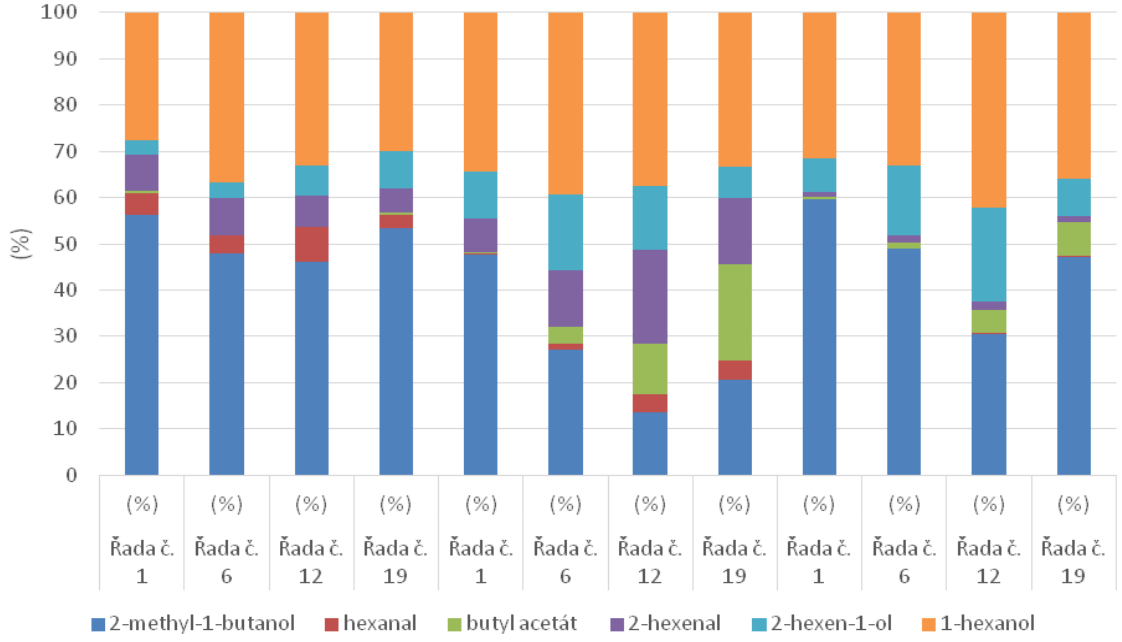
Obr. 1: Změny titrační kyselosti a refraktometrické sušiny

V průběhu procesu výroby byla sledována suma (v mg/l) 10 nejvíce zastoupených látek (Obr. 2) - skupiny esterů (ethyl butanoát, butyl acetát, ethyl-2-methylbutanoát, 2-methylbutyl acetát, hexyl acetát),aldehydů (hexanal, 2-hexenal) a alkoholů (2-methyl-1-butanol, 2-hexen-1-ol, 1-hexanol). Snižování koncentrace těchto látek je způsobeno jejich chemickou nebo enzymatickou přeměnou, tepelným záhřevem nebo vytěkáním během procesu výroby šťávního koncentrátu. Ve vzorku koncentrát nebyly nalezeny žádné z těchto látek.

Z porovnání jednotlivých řad je patrné, že vliv na obsah těkavých látek má i období sklizně. S rostoucí zralostí plodů roste do jisté míry také koncentrace senzoricky aktivních látek. V důsledku výrobního procesu se zvyšuje relativní podíl esterů (ethyl-2-methylbutanoát, 2-methylbutyl acetát, hexyl acetát, butyl acetát) a klesá relativní podíl látky 2-mehyl-1-butanol (Obr. 3).



Obr. 2: Obsah 10 nejvýznamnějších těkavých látek



Drť Aroma Šťáva po filtru

Obr. 3: Relativní zastoupení majoritních těkavých látek na začátku (vzorek drť) a na konci výrobního procesu jablečného koncentrátu (vzorky aroma a šťáva po filtru)

ZÁVĚR

K největším ztrátám těkavých látek dochází v závěrečném kroku výroby – při finálním (cca šestinásobném) zakoncentrování šťávy na odparkách. Vrácení odloučeného aroma do finální šťávy (po rekonstituci aromátu) se z tohoto pohledu jeví jako nezbytné, v uvedeném uspořádání přesto ne zcela dostačující.

Přestože teplotní režim, časové prodlevy a míra zavzdušnění přispívají k řadě chemických a enzymových změn těkavých látek a také k jejich ztrátám vytěkáním, jsou tyto změny z pohledu výše uvedeného zanedbatelné.

Naopak zpracování nezralé suroviny může obsah a profil klíčových látek (a tedy celkové smyslové vlastnosti) ovlivnit významně, jak ukázaly výsledky 1. řady (charakteristické nízkým obsahem cukrů a vysokou kyselostí).

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2016): A1_FPBT_2016_002. Autoři dále děkují firmě Linea Nivnice a.s za dodání vzorků a odbornou spolupráci.

LITERATURA

1. Wolter, C et al. Authentication of Fruit Juice Aroma: Evaluating Re-Aromatization. In Progress in Authentication of Food and Wine, 2011; 1081, 259-273.
2. Kadlec, et al. Technologie potravin, Key Publishing: Praha, 2012.
3. Linea Nivnice a.s.: Základní schéma výroby jablečného koncentrátu, 2015.
4. Šnebergerová, J.; Čížková, H.; Rajchl, A.; Ševčík, R.; Voldřich, M. Evalution of aroma restoration of apple and orange juices from concentrates in the Czech republic. Journal Food and Nutrition Research, 2012, 51, 156–163.
5. ČSN EN 12143. Ovocné a zeleninové šťávy – odhad obsahu rozpustné sušiny – refraktometrická metoda. 1998.
6. ČSN EN 12147. Ovocné a zeleninové šťávy - stanovení titrační kyselosti. 1998.

P 7

STANOVENÍ OBSAHU GLIADINU V PIVU

Mikulíková R., Svoboda Z., Benešová K., Běláková S.
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s. Brno

Celiakie je celoživotní onemocnění způsobené nesnášenlivostí lepku. Jedinou terapií je vyloučení lepku z potravy. Základem bezlepkové diety je naprosté vyloučení pšenice, žita, ječmene a výrobků z nich. Pro zlepšení kvality života celiatiků se v poslední době rozšiřuje sortiment potravin vhodných pro bezlepkovou dietu. Mezi nové nápoje vhodné pro celiatiky patří i bezlepkové pivo. Od 1. ledna 2012 platí nové Nařízení komise (ES) č. 41/2009, které mění označení bezlepkových výrobků. Nařízení uvádí jednotný limit pro bezlepkovou potravinu, a to bez ohledu na to, z jakých surovin byla vyrobena, a to ve výši 20 mg lepku/kg potraviny ve stavu určeném ke spotřebě. Aby se výrobce dostal do této kategorie, musí garantovat plnění podmínek vyhlášky (na obalu uvést označení o bezlepkovosti výrobku a výrobek musí být laboratorně otestován).

Pro stanovení hordeinových peptidů v pivech byla cíleně vyvinuta kompetitivní imunoenzymatická metoda, která je doporučena pro stanovení peptidových fragmentů v pivech a dalších potravinářských výrobcích, u kterých dochází k hydrolýze bílkovin. Použitá monoklonální protilátka R5 rozpoznává mezi ostatními toxickou sekvenci QQPFP, která se opakovaně vyskytuje v molekulách prolaminu.

Za účelem vhodnosti konzumace piva pro celiatiky byla analyzována piva z obchodní sítě kompetitivní imunoenzymatickou metodou. Bylo analyzováno 50 vzorků českých a zahraničních piv, obsahy gliadinu se pohybovaly od 5,0 do 1335,5 mg/l.

Tato studie byla financována z institucionální podpory Ministerstva zemědělství ČR (č. RO1916).

P 8

MODIFIKOVANÁ HPLC METODA S RI DETEKCÍ NA STANOVENÍ OBILNÝCH β-(1-3),(1-4)-D-GLUKANŮ

Pinkrová J., Bohačenko I.
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 1285/7, 102 31 Praha 10 - Hostivař

ÚVOD

Pro analytické stanovení β-glukanů, složky potravní vlákniny se širokou škálou pozitivních zdravotních účinků, se obvykle využívají enzymové metody založené na hydrolýze pomocí enzymů s β-glukanasovou aktivitou a s následným kvantitativním stanovením volné glukosy. V materiálech jako jsou obiloviny, krmiva, potraviny a nápoje, lze obsah β-glukanů stanovit komerčně dostupnou enzymovou metodou Megazyme (*AOAC 995,16; AACC 32-23.01; EBC 3.11.1, 4.16.1, 8.11.1; ICC 166*). Jeden z možných dalších přístupů stanovení β-glukanů je založen na enzymové hydrolýze a stanovení hydrolytických štěpů pomocí HPLC (Jiang a Vasanthan, 2000; Pérez-Vendrell et al., 1995; Yoo et al., 2007).

CHARAKTERISTIKA OBILNÝCH β-GLUKANŮ

β-glukany jsou rozpustná i nerozpustná složkou potravní vlákniny se širokou škálou pozitivních účinků – imunomodulační a protinádorová aktivita, efekt při snižování cholesterolu v krvi a udržování optimální hladiny cukru v krvi nebo hojivé účinky u pacientů v pooperačních stavech. Jde o polysacharidy β-(1-3),(1-4)-D-glukany (dříve také licheniny), které se nacházejí v buněčných stěnách vyšších rostlin a ve větším množství v semenech některých obilovin (ječmen, oves); pro ječmen jsou typické β-glukany se dvěma nebo více sousedícími β-(1-4) vazbami; v malém množství se na ně váží arabinosylové nebo xylosylové zbytky. Obsah β-glukanů v zrnu (% hm.): sladovnický a krmný ječmen 2 – 8 % (některé bezpluché kultivary ječmene až 16 %), oves 3 – 8 %, pšenice a žito 0,2 – 2 %, neloupaná rýže 1 – 2 %. Rozpustnost β-glukanů ve vodě závisí především na jejich struktuře a klesá v řadě oves > ječmen > pšenice; nejvíce rozpustné jsou polymery obsahující asi 30 % vazeb β-(1-3) a 70 % vazeb β-(1-4); rozpustnost β-glukanů se také mění s teplotou (např. při 40 °C se extrahuje asi 20 % β-glukanů ječmene, při 65 °C asi 30-70 %) (Velíšek, 1999). Pokud se týká analytického stanovení β-glukanů, tak v literatuře převažují metody založené na enzymové hydrolýze enzymy s β-glukanasovou aktivitou a s následným stanovením volné glukosy různými metodami např. UV, IR, HPLC; dále se v pivovarské praxi využívá metoda FIA (*flow-injection analysis*) (Hozová et al., 2007; Zygmunt a Paisley, 1993).

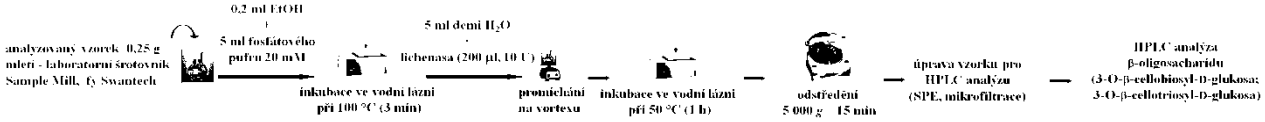
CÍL

Implementovat a interně validovat metodu částečné enzymové hydrolýzy lichenasou s následnou analýzou 2 hlavních produktů (3-O-β-cellobiosyl-D-glukosy a 3-O-β-cellotriosyl-D-glukosy) metodou HPLC s RI detekcí. V rámci validace porovnat zjištěné obsahy β-glukanů u vybraných produktů na bázi ječmene získané nově navrženou HPLC metodou s výsledky získanými enzymovou metodou Megazyme (referenční metoda).

EXPERIMENTÁLNÍ PROVEDENÍ A VÝSLEDKY

Principem navržené analytické metody je částečná hydrolýza přítomných β-glukanů lichenasou (endo-β-(1-3)-D-glukan-4-hydrolasa z *Bacillus subtilis*) na cellosylové oligosacharidy: 3-O-β-cellobiosyl-D-glukosu a 3-O-β-cellotriosyl-D-glukosu, které vznikají z 90 % původního množství. Tyto jsou následně stanoveny metodou HPLC s RI detekcí. Kvantifikace je prováděna metodou vnějšího standardu (čistý ječný β-glukan, Sigma-Aldrich).

✓ **Schematický postup:**



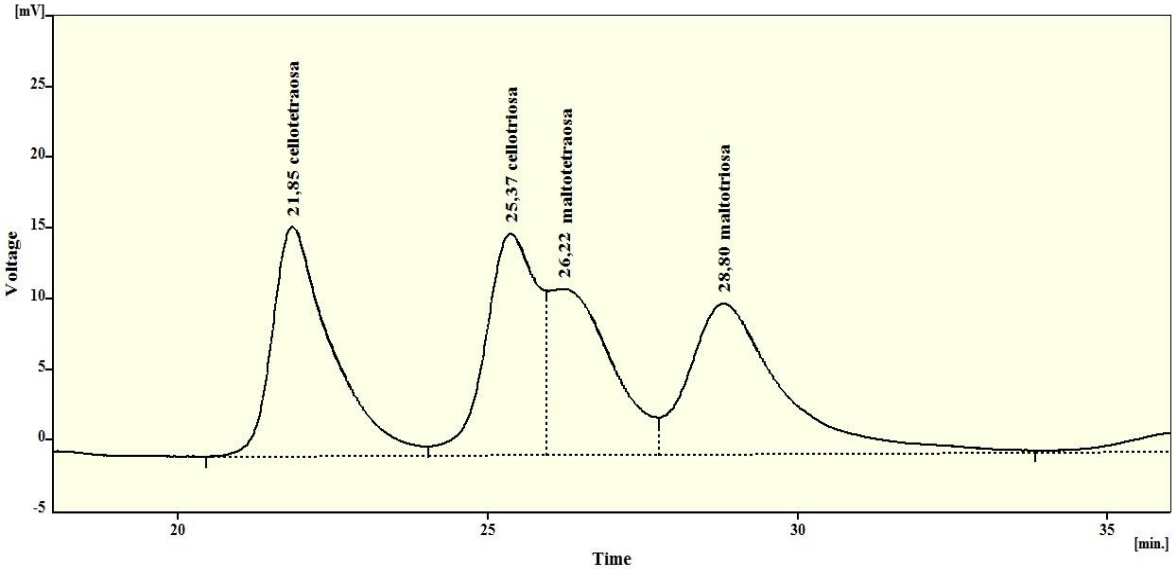
✓ **Použité zařízení a optimalizace chromatografických podmínek pro stanovení β-oligosacharidů**

HPLC sestava Waters (pumpa 515, in-line degasser AF, autosampler 717 plus, termostat kolon, refraktometrický detektor 2414)

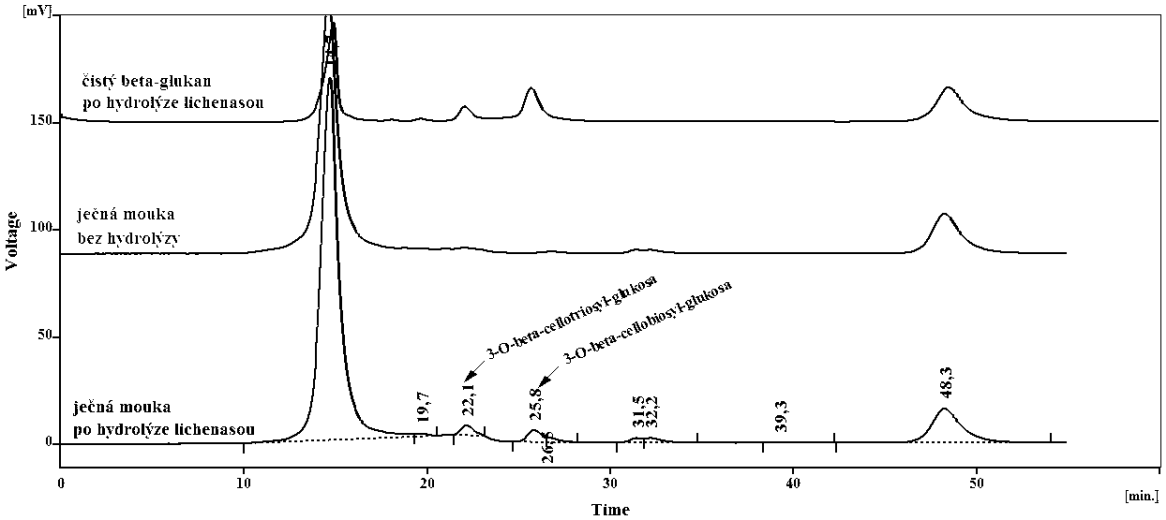
analytická kolona vč. předkolony Rezex RSO-Oligosaccharides Ag^+ sulfonovaný styren-divinylbenzen ze 4 % ve formě molekulární můstků a vázaným stříbrem

mobilní fáze: odvzdušněná demineralizovaná voda; průtok: 0,3 ml/min; teplota kolony: 50 °C; teplota detektoru: 35 °C; objem nástřiku: 10 ml

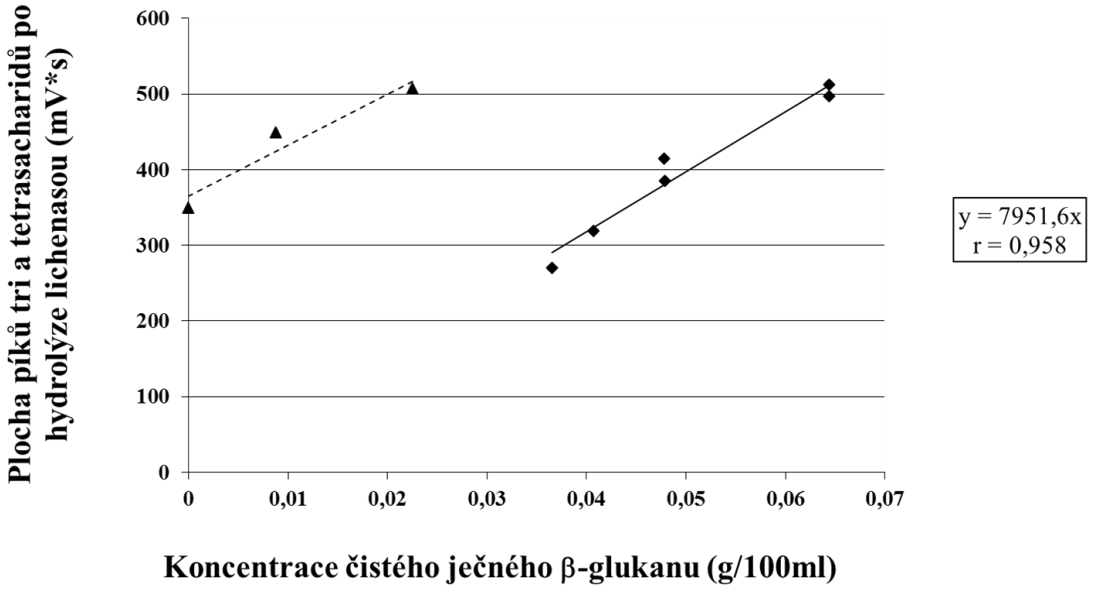
Při uvedených chromatografických podmínkách bylo dosaženo dobré separace přítomných cellosylových oligosacharidů včetně maltotriosy a maltotetraosy (viz Obr. 1). Na obr. 2 jsou dokumentovány chromatogramy hydrolyzátu čistého ječného β-glukanu a ječné mouky před a po úpravě lichenasou.



Obr. 1: Chromatografické dělení oligosacharidů (3-O-β-cellobiosyl-D-glukosa, 3-O-β-cellotriosyl-D-glukosa, maltotriosa, maltotetraosa)



Obr. 2: Chromatogramy extraktu čistého β-glukanu po hydrolýze lichenasou a ječné mouky před a po hydrolýze lichenasou



Obr. 3: Linearita chromatografických odpovědí v závislosti na obsahu ječných β-glukanů

✓ **Kvantifikace obsahu β-glukanů navrhovanou metodou HPLC**

Celkové plochy píků cellosylových oligosacharidů vykázaly lineární závislost s obsahem čistého ječného β-glukanu. Pro kvantifikaci obsahu β-glukanů v ječných materiálech byla využívána regresní rovnice (viz Obr. 3 plná přímka). Metoda je spolehlivá i v případě postupu standardního přídavku čistého ječného β-glukanu k ječné mouce (viz Obr. 3 čárkovaná přímka).

✓ **Schematický postup komerční enzymové metody *mixed-linkage beta-glucan* od firmy *Megazyme*** (*AACC Method 32-23.01, AOAC Method 995.16, EBC Methods 3.11.1, 4.16.1, 8.11.1, ICC Standard Method No. 166)*:

$$\beta\text{-glukan} + H_2O \xrightarrow{\text{lichenasa}} \beta\text{-glukooligosacharidy} + H_2O \xrightarrow{\beta\text{-glukosidasa}} \text{D-glukosa} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{glukosa-oxidasa}} \text{D-glukonát} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{p-hydroxybenzoová kyselina} + 4\ \text{aminoantipyrin} \xrightarrow{\text{peroxidasa}} \text{chinonimin} + 4\ H_2O$$

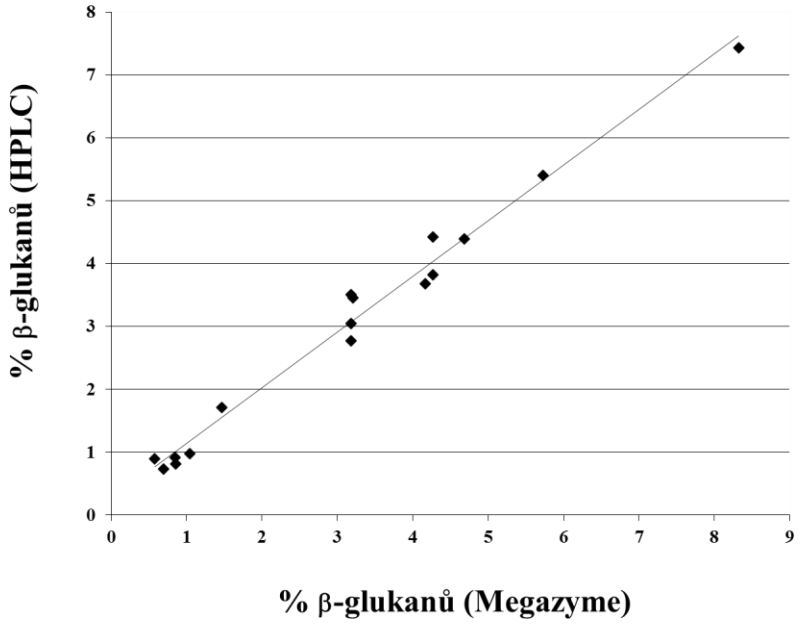
✓ **Interní validace navrhované metody HPLC**

Bylo provedeno 10 opakovaných analýz standardního materiálu ječné mouky a vybrané statistické parametry jsou uvedeny v Tab. I. Zjištěný průměrný obsah β-glukanů 4,42 % hm./suš. byl vyšší než obsah deklarovaný 4,10 % hm./suš. Z tohoto důvodu bylo potřeba u reálných vzorků provádět příslušnou korekci.

V rámci validace byly jednotlivé obsahy β-glukanů u 16 vybraných produktů na bázi ječmene získané navrhovanou metodou HPLC srovnány s výsledky získanými enzymovou metodou Megazyme (v koncentračním rozsahu obsahu β-glukanů 0,5 – 8 % hm./suš.). Mezi oběma metodami byl prokázán lineární vztah (viz Obr. 4).

Tab. I: Statistické parametry pro interní validaci navrhované metody HPLC na stanovení obsahu β-glukanů

Průměrná hodnota obsahu β-glukanů	(% hm./suš.)	4,42
Směrodatná odchylka	(% hm./suš.)	0,20
Relativní směrodatná odchylka	(%)	4,49
Interval spolehlivosti podle Studentova rozdělení (na hladině významnosti 0,95)	(% hm./suš.)	<4,25; 4,58 >
Výtěžnost metody (recovery)	(%)	107,77
Mez stanovitelnosti	(% hm./suš.)	0,50



Obr. 4: Porovnání metody HPLC s metodou Megazyme (n = 16 vzorků, r = 0,984, rozsah = 0,5 - 8,0 % hm./suš.)

ZÁVĚR

Navrhovaná implementovaná metoda využívající částečnou hydrolýzu β-glukanů lichenasou s následnou kvantifikací vzniklých β-oligosacharidů metodou HPLC s RI detekcí je opakovatelná a spolehlivá. Poskytuje srovnatelné výsledky s metodou Megazyme u vybraných produktů na bázi ječmene s různým obsahem β-glukanů v koncentračním rozsahu 0,5 – 8 % hm./suš. Dále představuje časovou i finanční úsporu (lze využívat rutinní instrumentální HPLC zařízení s RI detekcí, k optimálnímu dělení β-oligosacharidů dochází při použití demineralizované vody jako mobilní fáze, pro hydrolýzu nutný pouze jeden enzym).

LITERATURA

HOZOVÁ B., KUNIAK L., MORAVČÍKOVÁ P., GAJDOŠOVÁ A. (2007): Determination of water-insoluble b-D-glucan in the whole-grain cereals and pseudocereals. *Czech Journal of Food Sciences*, ***25***, 316-324.

JIANG G., VASANTHAN T. (2000): MALDI-MS and HPLC quanfitication of oligosaccahrides of lichenase-hydrolyzed water-soluble β-glucan from ten barley varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ***48***, 3305-3310.

PÉREZ-VENDRELL A. M., GUASCH J., FRANCESCH M., MOLINA-CANO J. L., BRUFAU J. (1995): Determination of β-(1-3),(1-4)-D-glucans in barely by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, ***718***, 291-297.
VELÍŠEK J. (1999): Chemie potravin 1, OSSIS Tábor, 223-225.
YOO D. H., LEE B. H., CHANG P. S., LEE H. G., YOO S. H. (2007): Improved quantitative analysis of oligosaccharides from lichenase-hydrolyzed water-soluble barely β-glucans by high-performance anion-exchange chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ***55***, 1656-1662.
ZYGMUNT L. C., PAISLEY S. D. (1993): Enzymatic method for determination of (1-3)(1-4)-beta-D-glucans in grains and cereals: Collaborative study. Journal of AOAC International, 76 (5), 1069-1082.

Tato práce byla podpořena institucionálním výzkumným projektem MZe RO0315.

P 9

POROVNÁNÍ ÚČINKŮ MLETÍ NA STRUKTURU A VLASTNOSTI MOUK

Pančíková B.[1], Sluková M.[1], Skřivan P.[1,2]
[1] Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
[2] Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 7, 102 31 Praha 10

ÚVOD

Obiloviny jsou zdrojem všech výživově významných látek. Obsahují sacharidy (škrob, neškrobové poly- a oligosacharidy a cukry), bílkoviny, lipidy, některé vitaminy (zejména vitaminy skupiny B, v klíčku je navíc vitamin E), minerální látky (zejména fosfor, železo, vápník, hořčík, draslík, zinek a další) a biologicky aktivní složky (jako jsou polyfenoly, cholin, fytoestrogeny apod.). Při porovnání chemického složení jednotlivých druhů obilovin lze uvést, že rýže nebo kukuřice mají nižší obsah bílkovin než ostatní obiloviny, oves má nejvyšší obsah lipidů (značný podíl lipidů se vyskytuje i v endospermu zrna), žito, oves a ječmen jsou zdrojem vlákniny. U většiny odrůd obilovin platí, že pluchatá zrna mívají vyšší obsahy minerálních látek a vlákniny než zrna bez pluchy. Nemusí to však být pravidlem. Jsou šlechtěny a v praxi využívány i speciální bezpluché (nahé) odrůdy obilovin, které mají vysoký obsah vlákniny, polyfenolů, esenciálních aminokyselin a minerálních látek. Variabilita obsahu a kvality složek je u jednotlivých obilovin mimo jiné výrazně ovlivněna nejen odrůdou, ale i podmínkami pěstování [1].

Jednotlivé vrstvy obilného zrna se sestávají z několika částí: oplodí (nejvrchnější obalové vrstvy), které obsahují nerozpustné polysacharidy (zejména celulosu) a lignin; osemení (podpovrchové obalové vrstvy), které obsahují neškrobové polysacharidy a barviva (barevné látky typu karotenoidů, zejména lutein); aleuronová vrstva (měkká, jednoduchá vrstva velkých buněk), která má vysoký obsah bílkovin, vitaminů a nejvyšší obsah minerálních látek ze všech složek zrna; endosperm obsahující zejména škrob (cca 75 %) a také bílkoviny (cca 12 %); blok klíčku a štítku, který má vysoký obsah lipidů a minerálních látek [1].

Dezintegrací obilného zrna dochází k mechanickému poškození škrobových zrn, která jsou poté snadněji enzymově narušována. Poškození škrobu může nastat také v důsledku záhřevu mezi válci válcové stolice (teplota zde dosahuje běžně přes 80 °C), přesto, že je mu melivo vystaveno jen na několik sekund. Stupeň poškození škrobu má dvojí význam. Z hlediska pekárenské technologie je do jisté míry žádoucí pro dostatečně rychlou a hlubokou fermentaci kvasů a těst. Z nutričního hlediska však vyšší stupeň poškození znamená též jeho rychlejší resorpci v organismu a tudíž vyšší glykemický index mouk a výrobků z nich. Stupeň poškození škrobu tedy podmiňuje jak technologické vlastnosti mouk, tak potenciální nutriční hodnotu výrobků z těchto mouk. Glykemický index mouk významně ovlivňuje obsah vlákniny [2]. Vysoce vymleté a tradičně vyrobené celozrnné mouky, nebo moučné směsi s přídavkem otrub nemívají často příznivé senzorické ani technologické vlastnosti. Pekařské výrobky z těchto mouk jsou tvarově spíše nižší, objemově menší a hutné v porovnání s kvalitou výrobků ze světlé, polosvětlé nebo chlebové mouky. Z hlediska výživy jsou však celozrnné mouky vynikajícím zdrojem vlákniny a bílkovin (jak lepkotvorných tak i nelepkotvorných), dále minerálních látek, vitaminů, lipidů a polyfenolických látek [1].

V rámci experimentu byly zkoumány vzorky mouk vyrobených jak standardním, tak moderním, speciálním mlýnským postupem. Byl analyzován soubor žitných, ječných a ovesných mouk s ohledem na kvalitu a obsah škrobu (poškozené a nepoškozené škrobové granule) a na složky vlákniny. Byl sledován a posouzen vliv těchto faktorů na pekařské vlastnosti a jakost finálního pekařského výrobku (formového a volně sázeného chleba).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Pro posouzení stupně poškození škrobu (poškození škrobu amylolytickými enzymy během sklizně a skladování obilovin) se u mouk stanovilo číslo poklesu (ČSN ISO 3093) (pádové číslo, *Falling Number*) a ve vodném výluhu mouky se titračně určilo maltosové číslo (obsah veškerých

redukujících látek) (ČSN 56 0512-13). Stanovení čísla poklesu poukazuje zejména na aktivitu amylolytických enzymů v mouce, avšak tímto stanovením nelze jednoznačně určit obsah poškozeného škrobu v mouce. Pro sledování poškození škrobu ve mlýně se využila farinografická vaznost mouky (metoda upravená pro žitné mouky) a SRC (retenční kapacita) suspenze mouky v roztoku uhličitanu sodného (AACC 56-11). Podíl poškozeného škrobu byl také zjištěn pomocí přístroje SDmatic (Chopin). Jednalo se o amperometrické proměření obsahu poškozeného škrobu (absorpce jodu ve vodné suspenzi mouky) (AACC 76-33.01, ICC No. 172/1). K vizuálnímu rozlišení nepoškozených, poškozených a různě deformovaných škrobových zrn v mouce byla využita skenovací elektronová mikroskopie (SEM, mikroskop TESCAN VEGA3 LMU s wolframovou katodou, BSE detektor). Ke stanovení obsahu minerálních látek (popela) byla použita norma ČSN ISO 2171. Obsah rozpustné, nerozpustné a celkové vlákniny byl stanoven podle normy AOAC 985.29 za použití enzymového setu Megazyme a obsah beta-glukanů metodikou AACC 32-23.

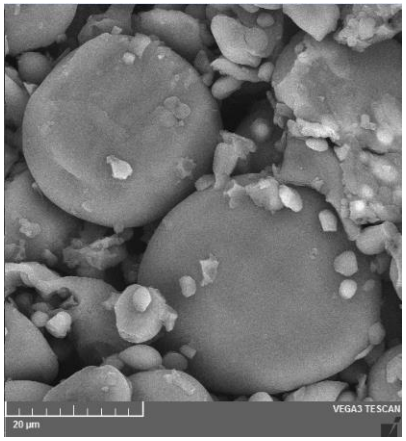
VÝSLEDKY A DISKUSE

Korelace mezi jednotlivými analytickými metodami byly vypočteny na základě analýz 64 vzorků žitných mouk chlebových (T 930) semletých tradičním způsobem. Korelace byla zjevná pouze mezi hodnotami farinografické vaznosti (metoda upravená pro žitné mouky) a hodnotami získanými na přístroji SDmatic (r=0,70, na hladině pravděpodobnosti 5 %). Mezi ostatními ukazateli nebyla prokázána další statisticky významná korelace. Potvrzuje se tak, že každá ze sledovaných analytických metod postihuje pouze část problému a skutečný stupeň poškození škrobových zrn nepostihuje. Exaktní pohled na rozsah poškození škrobových zrn poskytla skenovací elektronová mikroskopie (viz Obr. 1).

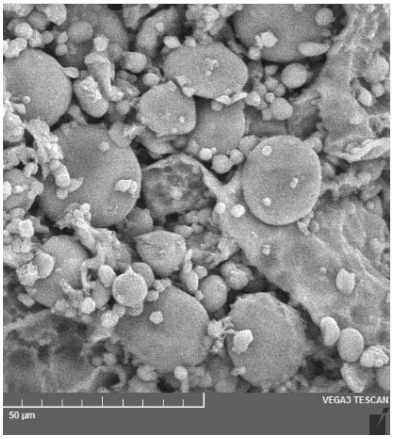
Nová metoda výroby celozrnných mouk na speciálním mlýně s využitím vysokorychlostního mlecího válce s vertikální osou rotace vycházela z následujícího postupu. Vlastní dezintegrace zrna probíhala mezi speciálně tvarovanými segmenty na obvodu mlecího válce a speciálně upraveným vnitřním pláštěm mlýna. Materiál byl zpracován na velmi homogenní jemnou mouku, která podle prvních pekařských zkoušek jevila pozoruhodně příznivé technologické i senzorické vlastnosti. Tímto způsobem vyrobené speciální celozrnné mouky obsahovaly vysoký podíl vlákniny a jejích složek (viz Tab. 1) a podle snímků SEM nedošlo k významnějšímu poškození škrobu (viz Obr. 2).

Tab. 1: Stanovení obsahu beta-glukanů a vlákniny potravy a popela ve speciálních celozrnných moukách (% v sušině)

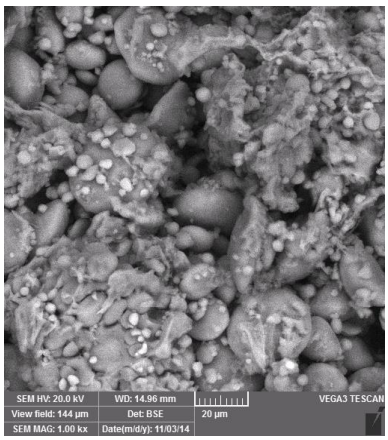
Mouka	Beta-glukany	Rozpustná vláknina	Nerozpustná vláknina	Celková vláknina	Popel
žito	1,5	1,6	9,6	12,5	1,48
oves bezpluchý 1	3,3	4,2	13,8	19,4	1,89
oves bezpluchý 2	3,2	4,0	18,5	25,1	2,01
oves pluchatý	3,3	5,1	26,6	34,3	2,86
ječmen nahý	5,1	6,8	10,0	18,1	1,31



žitná m. T 930 (zvětšení 2500x)



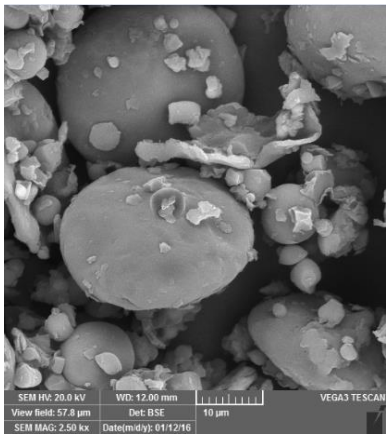
žitná m. T 930 (zvětšení 1500x)



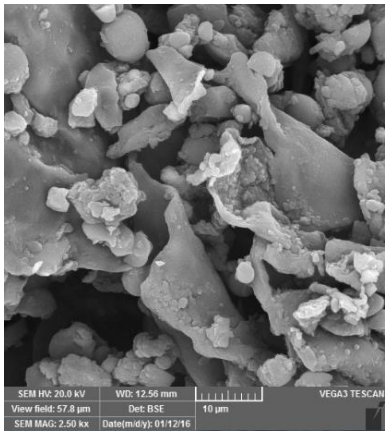
žitná m. T 930 (zvětšení 1000x)

deformovaná a částečně rozbitá velká škrobová zrna, narušená malá škrobová zrna

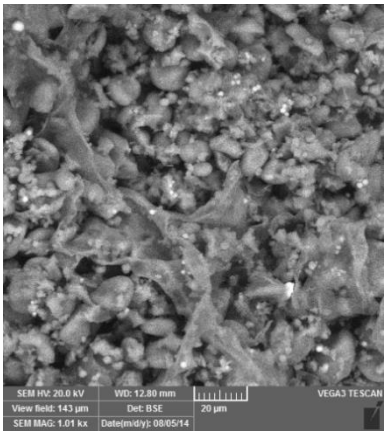
Obr. 1: Snímky mikrostruktury tradičních žitných mouk



žitná, celozrnná m. (zvětšení 2500x)



ovesná, celozrnná m. (zvětšení 2500x)



ječná, celozrnná m. (zvětšení 1000x)

méně narušená škrobová zrna a znatelné frakce vlákniny

Obr. 2: Snímky mikrostruktury speciálních celozrnných mouk

ZÁVĚR

V posledních desetiletích se pohled na mlýnskou technologii z hlediska nutričního významu mlýnských výrobků mění. Kombinace vysokého obsahu vlákniny v senzoricky přijatelné formě s obsahem škrobu s nízkým stupněm poškození je zejména z nutričního hlediska velmi významným úkolem a výzvou pro moderní mlýnskou technologii. První výsledky hodnocení několika speciálních mouk z různých obilovin vyrobených pomocí nového šetrného technologického postupu jsou z pohledu SEM velmi nadějné.

PODĚKOVÁNÍ

Prezentace byla finančně podpořena ČTPP při PK ČR (pracovní skupina Obiloviny v lidské výživě).

LITERATURA

[1] Příhoda J., Skřivan P., Hrušková M. (2003): Cereální chemie a technologie I. VŠCHT Praha.
[2] Venn B.J., Green T.J. (2007). Glycemic index and glycemic load: measurement issues and their effect on diet-disease relationships. *European Journal of Clinical Nutrition, 61*, 122-131.

P 10

HODNOCENÍ VLIVU MÁČENÍ NA VLASTNOSTI NAHÉHO JEČMENE

Jirsa O.[1], Vaculová K.[1], Sedláčková I.[1]
1) Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, 767 01 Kroměříž

Úvod

Snaha o zvýšení nutriční hodnoty komerčních pekařských i pečivárenských výrobků je celosvětovým trendem. K nejvíce limitovaným složkám hladké pšeničné mouky patří vláknina potravy, dále je zde nízké zastoupení některých skupin vitaminů, antioxidantů a dalších biologicky aktivních látek. Ječmen je jednou z perspektivních potravinářských surovin pro vysoký obsah rozpustné vlákniny a zvýšený obsah polyfenolických látek s antioxidačními účinky, např. isomery tokolů a tokotrienolů, kyselinu listovou, biotin a další vitaminy skupiny B a rovněž polyfenolické látky – flavonoidy, kyselinu, ferulovou, kumarovou, aj. (Vaculová et al. 2010).

Cílem práce bylo posoudit rozdíly v chemickém složení a technologických vlastnostech 14 genotypů jarního ječmene (sklizeň 2015) a vliv máčení na tyto vlastnosti.

Materiál a metody

V souboru byly zahrnuty 2 pluchaté sladovnické odrůdy (Bojos, Vendela), 2 potravinářské odrůdy s bezpluchým zrnem (AF Cesar, AF Lucius), 1 genový zdroj (Nudimelanocrithon) a 9 nových vlastních šlechtitelských materiálů. Materiály byly pěstovány za standardních agrotechnických postupů v polních podmínkách sklizňového roku 2015 na lokalitě v Kroměříži.

Pro sledování rozdílů mezi mlecími frakcemi byly vybrány čtyři genotypy: AF Lucius – první česká odrůda bezpluchého jarního ječmene (registrace 2009); AF Cesar – odrůda bezpluchého jarního ječmene (registrace 2014) se zvýšeným obsahem β-glukanů; KM 1057 – nová šlechtitelská linie bezpluchého jarního ječmene; Nudimelanocrithon – genetický zdroj původem z Ethiopie s černým zabarvením obilek, daným vysokým obsahem anthokyanů (Vaculová et al. 2010).

Máčení zrna bylo provedeno v mikrosladovně. Postup se dvěma namáčkami zahrnoval 1. namáčku (4 h), vzdušnou přestávku (20 h), 2. namáčku (5 h) a hvozdění při 50 °C. Postup s jednou namáčkou zahrnoval hvozdění po první namáčce. Mletí zrna čtyř vybraných genotypů bylo provedeno na laboratorní mlýnu Bühler MLU-202 s vlhčením zrna na 15,5% a odležením přes noc. Byly získány čtyři frakce: šrotová mouka (ŠM), vymílací mouka (VM), hrubé otruby (HO) a jemné otruby (JO). Ve vzorcích byl stanoven obsah N-látek Dumasovou spalovací metodou (ICC Standard No. 167 – ječmen N×6,25), číslo poklesu (ČSN EN ISO 3093), antioxidační kapacita (AOX) metodou DPPH a FRAP vyjádřená v µg Troloxu/g a celkový obsah polyfenolů (CP) vyjádřený v mg GAE/g.

Výsledky a diskuse

Číslo poklesu (FN) se používá především jako důležitý technologický ukazatel amylolytické aktivity pšeničného zrna, ale je využitelné i v případě ječmene. Vysoké hodnoty FN (>300 s), tj. nízkou aktivitu amyláz, mělo zrno registrovaných odrůd (Obr. 1), nejvyšší z nich AF Cesar (490 s). Velmi nízké hodnoty (<100 s) měly dva genotypy (KM2881 a KM1057). Již po první namáčce došlo k významnému poklesu (max. 190 s), po druhé namáčce byly hodnoty na hranici stanovitelnosti (tj. 62 s). Porovnání mlecích frakcí v nativním zrnu a po první namáčce ukázalo nejnižší hodnoty u hrubých otrub a nejvyšší u jemných otrub. Po druhé namáčce nebyly rozdíly významné.

Nejméně N-látek v nativním zrnu měly oba sladovnické ječmeny (méně než 12,0 %), nejvíce Nudimelanocrithon (18,2 %). Další čtyři genotypy měly více než 13,0 %, mezi nimi AF Lucius (13,1 %) a KM1057 (14,4 %). Namáčky neměly významný vliv na obsah N-látek. Významně vyšší obsah měly otruby než mouky (o více než 5 jednotek).

V antioxidační kapacitě byl pozorován až dvojnásobný rozdíl mezi genotypy (Obr. 2). Nejnižší hodnoty v nativním zrnu měl Nudimelanocrithon (1368 µg/g) a Bojos (1605 µg/g), nejvyšší

hodnotu měl KM1057 (2846 µg/g). Vysoký obsah měla kromě dvou linií KM2454 také odrůda AF Lucius (2465 µg/g). Mezi hodnotami DPPH a FRAP byla vysoká korelace (R^2 = 0,92). Menší rozdíly byly v obsahu celkových polyfenolů – v nativním zrnu 1,38 mg/g až 2,25 mg/g. Pozitivní korelace mezi CP a AOX (Obr. 3) byla významná až při vyšší hladině AOX (cca od 2300 µg/g). V máčeném zrnu byly pozorovány srovnatelné hodnoty AOX i CP. Výrazné rozdíly AOX byly pozorovány mezi moukou a otrubami. Mouka z nativního zrna čtyř vybraných genotypů měla hodnoty 430 µg/g až 933 µg/g, zatímco otruby 2012 µg/g až 5601 µg/g. Nejvyšší hodnoty měla linie KM1057, která měla srovnatelné hodnoty mezi hrubými a jemnými otrubami, ostatní genotypy měly vyšší hodnoty v hrubých otrubách. V máčeném zrnu bylo pozorováno zvýšení AOX ve frakci jemných otrub, ovšem kromě Nudimelanocrithonu.

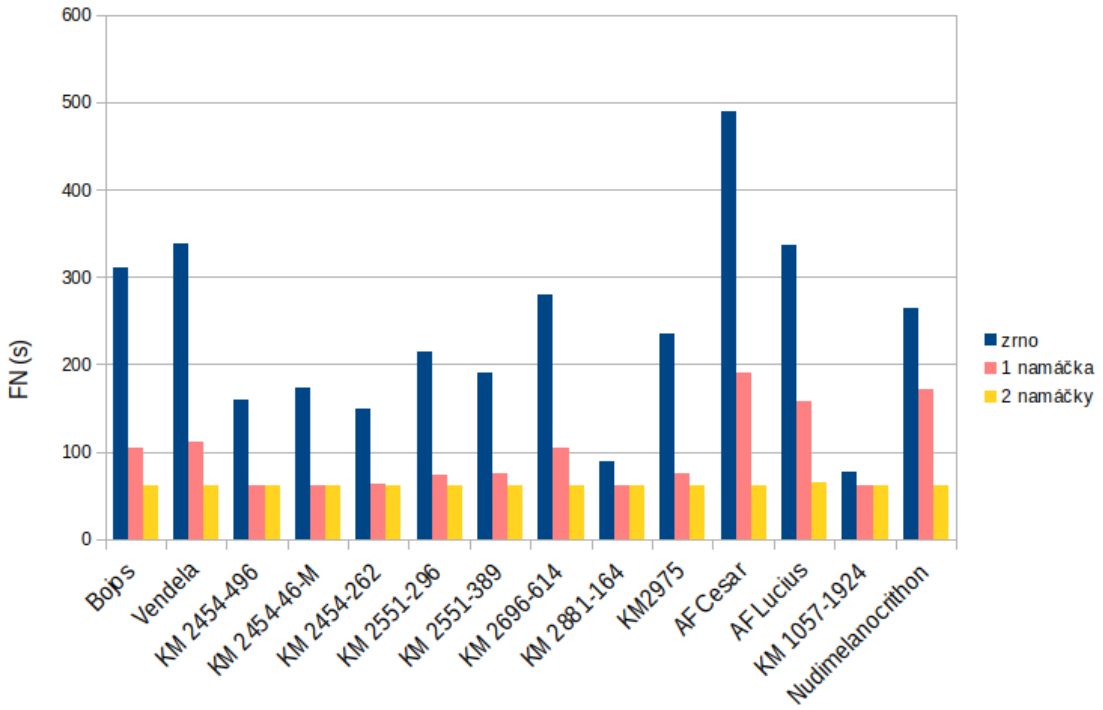
Závěr

- V zrnu registrovaných odrůd byly vysoké hodnoty FN, již po první namáčce FN významně klesá.
- Nejméně N-látek měly sladovnické ječmeny, nejvíce Nudimelanocrithon.
- Až dvojnásobný rozdíl byl v antioxidační kapacitě mezi genotypy.

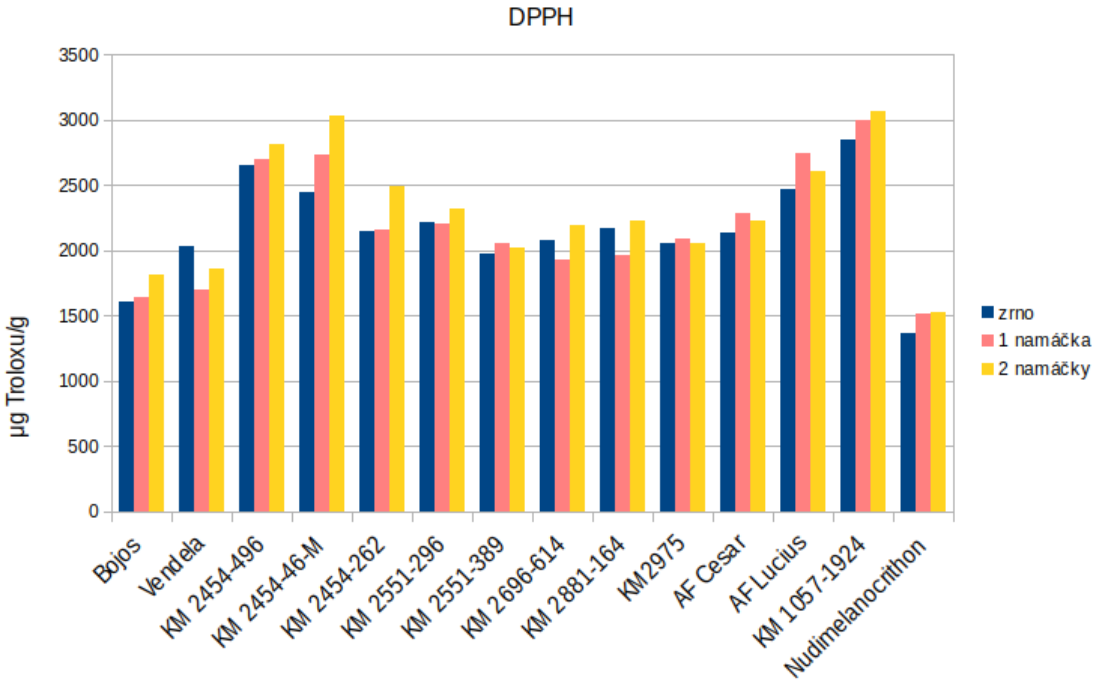
Použitá literatura

Vaculová K., Jirsa O., Martinek P., Balounová K. (2010): Hodnocení kvality zrna vybraných vzorků netradiční pšenice a bezpluchého ječmene. Obilnářské listy XVIII, 3, 2010:71-77, ISSN 1212-138X.

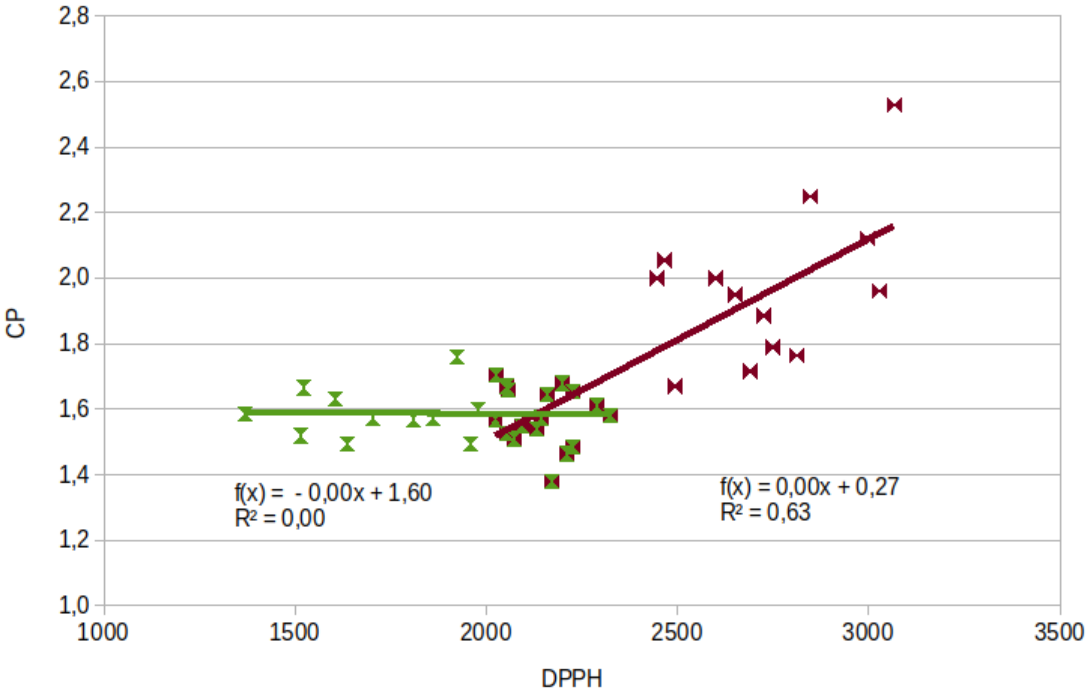
Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství ČR (institucionální podpora na dlouhodobý rozvoj VO, rozhodnutí MZe RO0211) a Technologickou agenturou ČR (TE02000177). Prezentace byla podpořena Českou technologickou platformou pro potraviny při Potravinářské komoře ČR.



Obr. 1 Hodnoty čísla poklesu v nativním zrnu, po první a druhé namáčce.



Obr. 2 Hodnoty antioxidační kapacity (DPPH) v nativním zrnu, po první a druhé namáčce.



Obr. 3 Vztah mezi antioxidační kapacitou (DPPH, µg Troloxu/g) a celkovými polyfenoly (CP, mg GAE/g).

P 11

MERLÍKOVÉ KLÍČKY – POTRAVINA S VYSOKOU ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU

Pexová Kalinová J.[1], Bigasová V.[1]
[1)] Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice

Merlík čilský (*Chenopodium chinoa*) je rostlina jednoletá z čeledi laskavcovitých, řazená do skupiny pseudoobilovin. Zeleně, purpurově či červeně zbarvené stonky dosahují výšky 150–220 cm, z toho 20–30 cm tvoří květenství. Listy jsou řapíkaté, trojúhelníkovitého tvaru, ve spodní části oboustranně se 2–3 zuby, v horní části celokrajné. Drobná, kulatá, plochá semena s HTZ okolo 2,85 g mají světle žlutou barvu, ale vyskytují se i ekotypy bílé, růžové, fialové či hnědé (Ruales, Baboo, 1993).

Merlík čilský je plodina tradičně pěstovaná v oblasti Andských náhorních plošin pro vysoce nutričně hodnotná semena. Semena chinoi mají vyšší obsah bílkovin, obsahují také více vitaminů, zejména karotenu, riboflavinu, tokoferolu, ale i minerálních látek než obiloviny. Chinoa obsahuje nejkompletnější rostlinný protein, odpovídající svojí kvalitou kaseinu. Lyzinu, který je limitující aminokyselinou většiny cereálií, obsahuje v porovnání s nimi více než dvojnásobné množství (Kopáčová, 2007).

Jedním ze způsobů uplatnění merlíku v lidské výživě je jeho nakličování. Proces klíčení zvyšuje nutriční hodnotu semen zlepšením dostupnosti živin a zvýšením obsahu jak základních složek tak biologicky aktivních látek, mění texturu i organoleptické vlastnosti (Lopez – Amoros et al., 2006). Konzumace klíčků tak přispívá k posílení imunitního systému a eliminaci škodlivých radikálů v lidském těle (Donkor et al., 2012). Rostlinné klíčky jsou proto dobrým příkladem tzv. funkčních potravin, definovaných jako potraviny snižující riziko civilizačních onemocnění a vykazující pozitivní účinky na lidské zdraví.

Cílem této práce je stanovit antioxidační aktivitu klíčků merlíku čilského a získané výsledky porovnat s antioxidační aktivitou klíčků jiných plodin běžně využívaných v lidské výživě.

Materiál a metody

Pro pokus byly použity tři odlišně zbarvené odrůdy merlíku čilského: Sajama; Pasankalla a Collana negra (tab. 1), dále semena pískavice řeckého sena (*Trigonella foenum-graecum*), fazole mungo (*Vigna radiata L. Vilczek*) a laskavce ocasatého (*Amaranthus caudatus*) odrůda Oscar blanco.

Tabulka 1: Použité odrůdy merlíku čilského

Odrůdy	Původ	Délka vegetace (dny)	Výška rostlin (cm)	Zbarvení osemení	HTS (g)
Sajama	Bolívie 1976	145	150 - 180	sv. žluté matné	3,40 - 3,60
Pasankalla	Peru 2006	144	130 - 140	červené matné	3,51 - 3,72
Collana negra	Peru 2008	138	120 - 130	černé lesklé	2,03

Příprava vzorků

Semena byla kultivována v laboratorních podmínkách při teplotě 21±1 °C při délce dne 13 hodin na Petriho miskách po dobu 72 hodin, poté byla zlyofilizována (Alpha 1-4 LSC, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Německo) a následně rozemleta na

planetovém mlýnu (Pulverisette 6 clasic line, Fritsch GmbH, Německo). Naklíčená semena byla ručně zbavena osemení s výjimkou pískavice a laskavce. Osemení klíčků merlíku čilského byla analyzována jako separátní vzorky. Extrakce vzorků byla provedena 80% metanolem. Supernatant byl odstředěn (4500 rpm, 20˚C, 15 min) a zfiltrován přes filtrační papír (KA 1, ČR). Vzorky byly do provedení analýzy uchovávány při teplotě -12 °C bez přístupu světla.

Stanovení antioxidační aktivity

Měření celkové antioxidační aktivity (AA) bylo provedeno spektrofometricky (BioMate 5, Thermo Electron Corporation, USA), metodami založenými na schopnosti vzorku zhášet volné kationty radikálů $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát; Sigma Aldrich) a $DPPH^{\bullet+}$ (1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl; Sigma Aldrich). Výsledky měření byly vyjádřeny jako ekvivalenty standardu Troloxu (TE) (6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametylchroman-2-kyselina karboxylová; Sigma Aldrich), který je syntetickým ekvivalentem vitamínu E, na kilogram sušiny.

DPPH

Pro stanovení byla použita metodika dle Parejo a kol., 2000. Ředěním byla připravena řada kalibračních roztoků Troloxu v 80 % metanolu o koncentraci 0,1; až 2,0 mM. Bezprostředně před provedením analýzy byl zásobní roztok radikálu DPPH zředěn na koncentraci 0,06 mM. Do kyvet bylo k 0,975 ml roztoku DPPH přidáno 0,025 ml jednotlivých kalibračních roztoků. Takto připravené vzorky byly inkubovány při teplotě 30℃ bez přístupu světla. Absorbance byla měřena po uplynutí 30 minut při vlnové délce λ=515 nm. Z naměřených hodnot byla po odečtení počáteční absorbance roztoku DPPH vytvořena kalibrační křivka. Jednotlivé vzorky byly měřeny stejným způsobem a výpočtem byla stanovena antioxidační aktivita v jednotkách mg TE . kg^{-1} sušiny vzorku.

ABTS

Pro stanovení byla použita metodika dle Šulce a kol., 2007. Radikál $ABTS^{\bullet+}$ byl generován oxidací ABTS oxidem manganičitým a naředěn fosfátovým pufrem (5mM, pH 7,4) na absorbanci 0,800 ± 0,02. Ředěním byla připravena řada kalibračních roztoků Troloxu v 80 % metanolu o koncentraci 0,1 až 2,0 mM. Do kyvet bylo k 0,990 ml roztoku ABTS přidáno 0,010 ml jednotlivých kalibračních roztoků. Absorbance byla měřena po uplynutí 15 minut, při vlnové délce λ=734 nm. Z naměřených hodnot byla vytvořena kalibrační křivka. Jednotlivé vzorky byly měřeny stejným způsobem a výpočtem byl stanoven obsah v jednotkách mg TE . kg^{-1} sušiny vzorku.

Výsledky a diskuze

Nejvyšší hodnota AA porovnávaných druhů stanovená metodou DPPH byla naměřena u klíčků merlíku čilského, přičemž nejvyšší hodnoty dosahovala odrůda s černě zbarvenými semeny, následovala červeně zbarvená semena a nejnižší hodnotu vykazovala odrůda se semeny bílými. Následovala pískavice řecké seno, laskavec a mungo fazole.

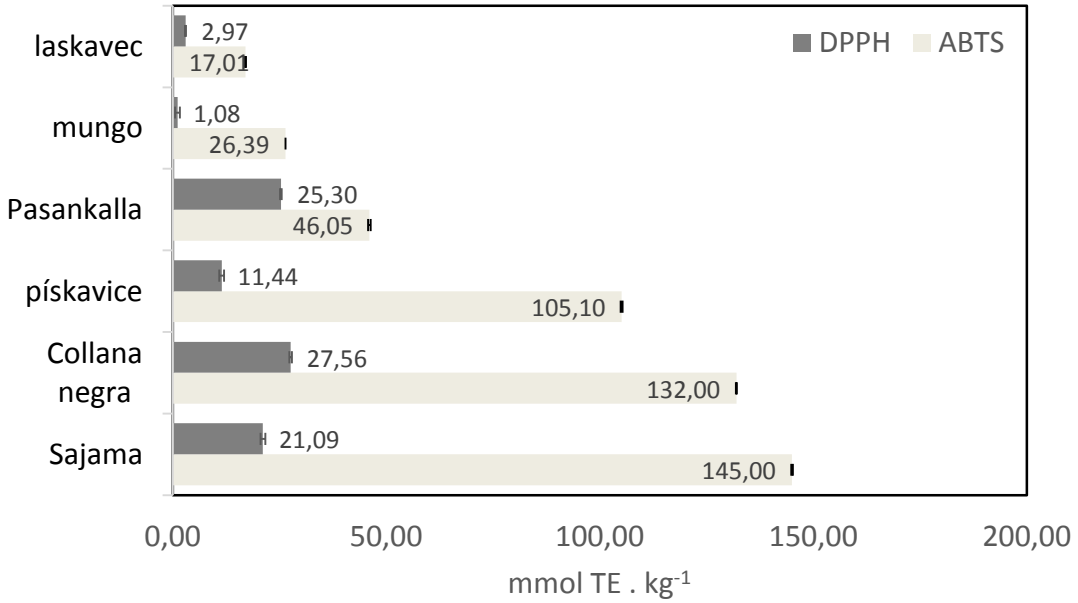
Pořadí hodnot AA jednotlivých druhů stanovené metodou $ABTS^{\bullet+}$ se lišilo od pořadí hodnot naměřených metodou s DPPH pouze v pořadí použitých odrůd merlíku čilského (graf 1).

Nejvyšší antioxidační aktivitu vykázaly klíčky odrůdy s bílými semeny, následovaly klíčky odrůdy s černými a nakonec s červenými semeny. Naměřené hodnoty AA se shodují s údaji dalších autorů např. Paśko a kol., (2009).

DPPH test je při reakci s donory H selektivnější než $ABTS^{\bullet+}$. Tomu odpovídají i nižší hodnoty naměřené metodou s DPPH u všech vzorků. Vzhledem k tomu, že různé antioxidační sloučeniny mohou působit různými mechanizmy in vitro, je nutné pro posouzení celkové antioxidační aktivity kombinovat více metod. Mezi hodnotami antioxidační aktivity stanovené

metodou DPPH a ABTS byla nalezena kladná korelace (y = 0,1765x - 2,1956 R^2 = 0,8512).

Graf 1: Porovnání antioxidační aktivity různých druhů klíčků (průměr ± směrodatná odchylka) stanovené metou DPPH a ABTS



Osemení merlíku čilského vykazovalo vysoký podíl na celkové antioxidační aktivitě vzorků (27 – 48 %) (graf 2). Lze proto předpokládat, že absence osemení u fazole mungo způsobila nižší naměřenou celkovou AA v porovnání s jinými autory (Pajak a kol, 2013, 5,63 mmol TE. kg^{-1}, Cevallos-Casals a kol., 2009, 19,58 mmol TE. kg^{-1}).

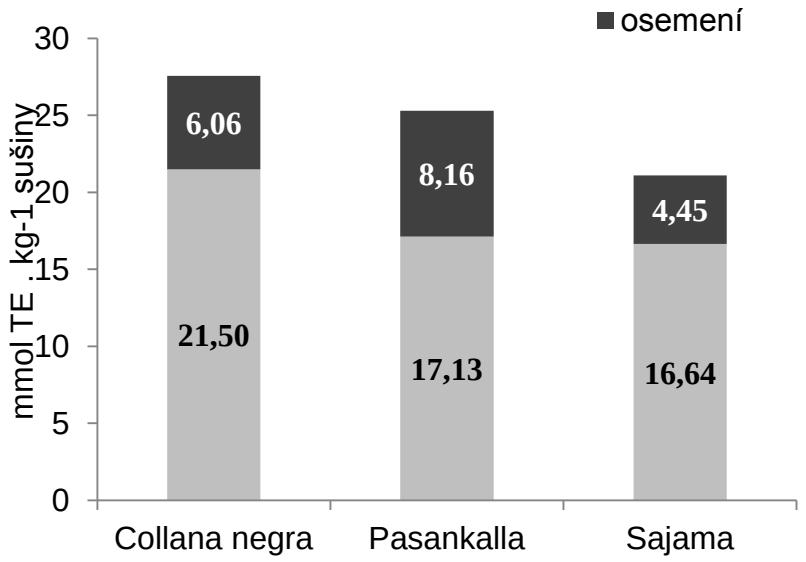
Dalším faktorem ovlivňujícím AA je kvalita použitých semen. Klíčky odrůdy s červenými semeny vykázaly nejnižší antioxidační aktivitu z merlíků a tato semena také velmi obtížně klíčila. Mezi klíčivostí semen a jejich AA (ABTS) byla statisticky prokázána pozitivní korelace (y = 1,9299 x - 33,213; R^2 = 0,9998).

Závěr

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že klíčky merlíku čilského, zejména odrůd s černě zbarvenými semeny, jsou vynikajícím zdrojem antioxidantů. Je možné je konzumovat přímo v syrovém stavu, kdy se vyznačují velmi příjemnou jemnou chutí, nebo je možné je použít i k obohacení dalších pokrmů pro zvýšení nutriční hodnoty.

Práce byla podpořena grantem GAJU 112/2016/Z

Graf 2: Podíl klíčků a osemení merlíku čilského na antioxidační aktivitě klíčících semen stanovené metodou DPPH



Literatura

CEVALLOS-CASALS, B.A. CISNEROS-ZEVALLOS, L.. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. Food Chemistry, 2010, 119(4), 1485-1490

DONKOR, O.N., STOJANOVSKA, L., GINN, P., ASHTON J., VASILJEVIC, T.. Germinated grains – Sources of bioactive compounds. Food Chemistry. 2012, 135(3), 950-959

KOPÁČOVÁ, O. Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům. ÚZPI, Praha, 2007. ISBN 978-80-7271-184-0, 55 s.

LÓPEZ-AMORÓS, M.L., HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I. Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(4), 277-283

PAJĄK, P., SOCHA R., GAŁKOWSKA D., ROŻNOWSKI J., FORTUNA T.. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. Food Chemistry, 2014,143, 300-306.

PAREJO, I., CODINA C., PETRAKIS C., KEFALAS P.. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH· (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2000, 44(3), 507-512.

PAŚKO, P., BARTOŃ, H., ZAGRODZKI, P., GORINSTEIN, S., FOŁTA M., ZACHWIEJA, Z. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. Food Chemistry, 2009,115(3), 994-998.

ŠULC, M., LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSÁK, M., DVOŘÁK P., HORÁČKOVÁ, V. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. Chemické listy, 2007, (101), 584−591.

.

P 12

ANALÝZA ROSTLINNÝCH SILIC POUŽITELNÝCH K FORTIFIKACI POTRAVINÁŘSKÝCH VÝROBKŮ

Svoboda Z. (1), Mikulíková R. (1), Pluháčková H. (2), Běláková S. (1), Benešová K. (1)
(1) VÚPS, a. s., Sladařský ústav Brno
(2) MENDELU v Brně, Agronomická fakulta

Levandule lékařská a máta peprná jsou aromatické byliny s léčivými i kořeninovými vlastnostmi. Mezi nejvýznamnější látky obsažené v těchto rostlinách patří silice. Množství a vlastnosti jednotlivých látek obsažených v silicích jsou rozhodující pro jejich využití v potravinářském průmyslu, kde jsou používány mimo jiné k aromatizaci potravin.

Silice byly ze sušených květů levandule a sušených listů máty získána destilací vodní parou. Relativní zastoupení obsahových látek v izolovaných silicích bylo stanoveno metodou plynové chromatografie kombinované s hmotnostním detektorem. Byly porovnávány silice z rostlin z polní pokusné stanice Žabčice a z rostlin zakoupených v obchodní síti.

Vzorky silice z levandule vypěstované na polní pokusné stanici v Žabčicích obsahovaly v největším množství linalool (56,2 – 66,6 %) a linalyl acetát (21,5 – 34,8 %), vzorky silice z levandule zakoupené v obchodní síti obsahovaly v největším množství linalool (24,4 – 31,0 %), kafr (25,8 – 28,1 %), eukalyptol (20,3 – 22,3 %) a linalyl acetát (11,6 – 16,9 %). Zastoupení jednotlivých obsahových složek ve všech vzorcích mátové silice bylo srovnatelné. V největším obsahu byl zastoupen menthon (34,3 – 53,8 %) a menthol (26,9 – 42,8 %).

Poděkování: Tato práce byla vypracována v rámci projektu TAČR TE02000177 „Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků“.

P 13

CHEMICKÉ A ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI ČESNEKŮ NA ČESKÉM TRHU

Ilko V., Gábriková M., Panovská Z., Doležal M.
VŠCHT Praha, Ústav analýzy potravin a výživy

Souhrn

Předmětem zkoumání této práce byl česnek kuchyňský (*Allium sativum*). Pomocí analytických a senzorických metod byly zjišťovány rozdíly v 11 různých vzorcích česneků zakoupených v tržní síti. Tyto česneky se lišili v zemi původu, způsobu pěstování (bio vs. konvenční) a formou zpracování (čerstvý vs. sušený).

Ve vzorcích byly stanoveny těkavé látky pomocí metody HS-GC/MS. Těkavé látky byly sorbovány na SPME vlákno. Bylo zjištěno, že obsah těkavých látek se mezi vzorky liší jen minimálně a tedy geografický původ a způsob pěstovaní neměly výrazný vliv na zastoupení těkavých látek. Dominantní těkavou látkou u všech vzorků byl diallyldisulfid.

Při senzorické analýze panel hodnotitelů analyzoval česnekové výluhy. Ve vzorcích byly zkoumány následující deskriptory: celkový vzhled, intenzita barvy, intenzita a příjemnost česnekového aroma, intenzita a příjemnost česnekové chuti, intenzita štiplavé chuti a intenzita česnekové chuti po minutě. Z výsledků vyplynulo, že hodnotitelé nerozeznali vzorky konvenčních a bio pěstovaných česneků. Naopak rozeznali vzorky čerstvého česneku od sušeného.

Úvod

Do rodu *Allium* patří víc jak 600 různých druhů rostlin, přičemž jen část se využívá ke komzumaci. Za typickou vůni čerstvého česneku (*Allium sativum*) je zodpovědná sloučenina diallylthilsulinát (allicin), který vzniká při enzymatické reakci z alliinu. Thiosulfáty najdeme i v jiných rostlinách druhu *Allium* kde jsou lokalizovány v cytoplazmě buněk. Při vyšších teplotách dochází k jich rozkladu na příslušné disulfidy a dialk(en)-ylthiosulfonáty. Chuťové látky v rostlinách rou *Allium* se rozdělují na primární a sekundární, které jsou deriváty primárních látek. Tyto látky jsou nestálé při změně teploty a pH. Při tepelných procesech probíhají složité reakce rozkladu nebo vzniku aduktů s redukujícími cukry nebo karboxylovými kyselinami.

Analyzované vzorky

V rámci experimentální práce se analyzovalo 11 vzorků česneků, přičemž 8 vzorků bylo čerstvých a zbylé vzorky byly sušené. Vzorky byl zakoupeny v tržní síty v české republice a na Slovensku. Práce chtěla zachytit rozmanitost v předávaných česnecích, aby byly mezi výrobky zakoupeny jak konvenčně pěstované česneky tak i česneky pěstované v bio kvalitě. Vzorky, které byly použity v této práci uvádí tabulka I.

Metody a postupy

Senzorická analýza byla provedena metodou profilu. Česnek se navážil (10 g čerstvého česneku, 4 g sušeného česneku), přelisoval a zalil 0,5 l vroucí vody. Minutu se louhoval a následně byl přefiltrován, aby se z roztoku odstranili pevné částice. Takto připravený roztok byl dán do uzavíratelných nádob a předložen hodnotitelům. Na hodnocení se využívali nestrukturované stupnice. Panel hodnotitelů hodnotil následující deskriptory: celkový vzhled, intenzitu barvy, intenzitu česnekové aróma, příjemnost česnekové aróma, intenzitu česnekové chutě, příjemnost česnekové chutě, intenzitu štiplavé chutě a intenzitu česnekové chuti po uplynutí jednej minuty. Dále byl přípraven výluh s přídavkem NaCl a glutamanu sodného. Cílem bylo porovnání ochucených a neochucených roztoků

Pro stanovení sušiny bylo naváženo 5 g očistěného česneku. Vzorek byl, kvůli inaktivaci enzymů, zahříván v mikrovlnné troubě 1 minutu při výkone 600W. Po inaktivaci byl česnek předsušen při teplotě 70 °C po dobu 24 hodin. Potom byla teplota v termostatu zvýšena na 105 °C a

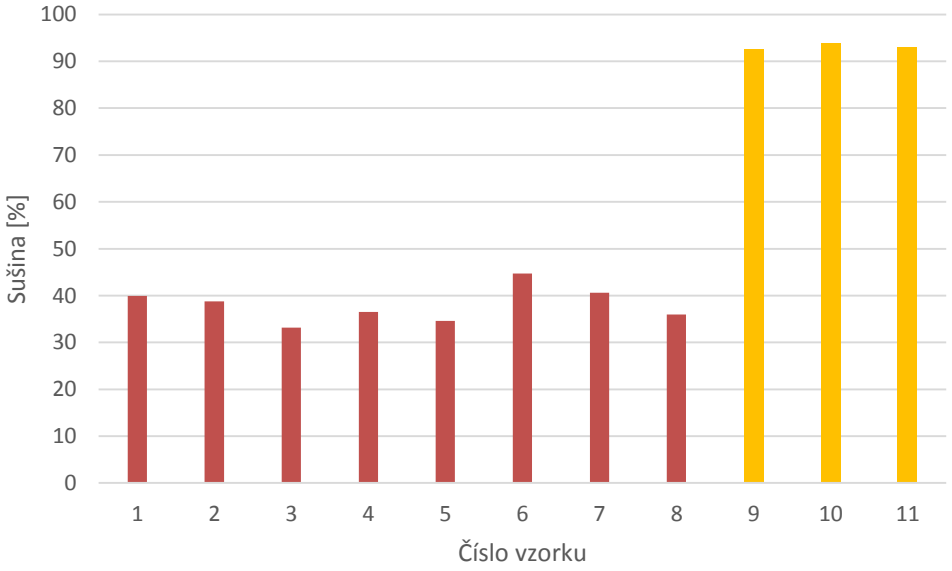
vzorek byl dosušen do konstantní hmotnosti. Vzorky sušených česneků byly naváženy a sušeny přímo při 105 °C do konstantní hmotnosti.
Stanovení těkavých látek probíhalo metodou extrakce na pevnou fázi (SPME).Vzorky česneků (cca 5g) byly nakrájeny na menší kousky a vloženy do banky. Do prostoru head space (HS) bylo vysunuté vlákno PDMS/DVB o průměru 65 µm. Sorpce těkavých látek probíhala 10 minut při laboratorní teplotě. Analýza těkavých látek byla provedena na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí na koloně HP Innowax, která mněla délku 30 metrů, vnitřní průměr 0,25 mm a tloušťku filmu 0,25 µm. Desorpce probíhala při teplotě injektoru 250°C po dobu 5 minut. Počáteční teplota byla 45°C a byla postupně zvyšovaná s gradientem 5°C za minutu až do dosáhnutí 150°C. Po této teplotě byl gradient 10°C za minutu až po teplotu 240°C která byla držena 15 minut. Hmotnostní spektrometr pracoval v módu Scan (30 do 350 m/z). Chromatogramy byly analyzovány za pomoci MSD ChemStation Data Analysis a na kvalifikaci látek, byla použitá knihovna NIST Spectral Data.

Tabulky I. Popis analyzovaných vzorků

Vzorek	Popis
1	slovenský česnek bio
2	český česnek bio 1
3	česky česnek bio 2
4	český česnek běžně dostupný v komerční síti
5	polský česnek bio
6	slovenský česnek bio
7	čínský česnek běžně dostupný v komerční síti
8	španělský česnek běžně dostupný v komerční síti
9	sušený česnek značky Basic Albert
10	sušený česnek značky Avokádo
11	sušený česnek značky Vitana

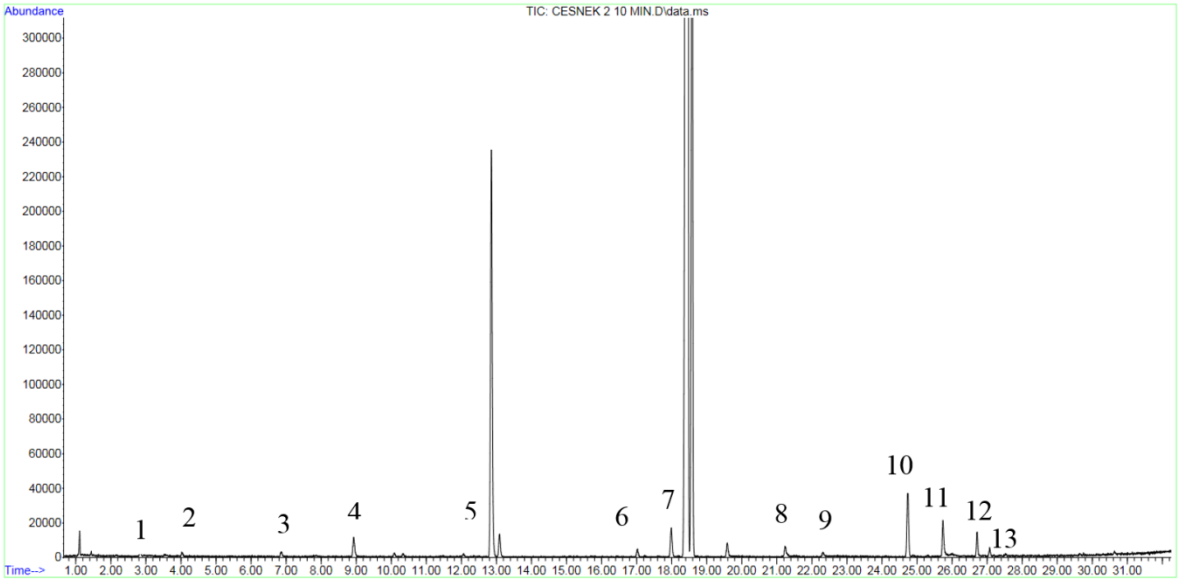
Výsledky a diskuse

Předpokládané množství sušiny bolo kolem 40% což přibližně zodpovídá výsledkům měřeni. Sušina u čerstvých česneků se pohybovala mezi 33,14 % (vzorek 3) až k 44,74 % (vzorek 6). Sušina u sušených česneků byla v rozmezí 92,46 % (vzorek 9) do 93,92 % (vzorek 10). Grafické zobrazení obsahu sušiny ve vzorcích uvádí obrázek 1.

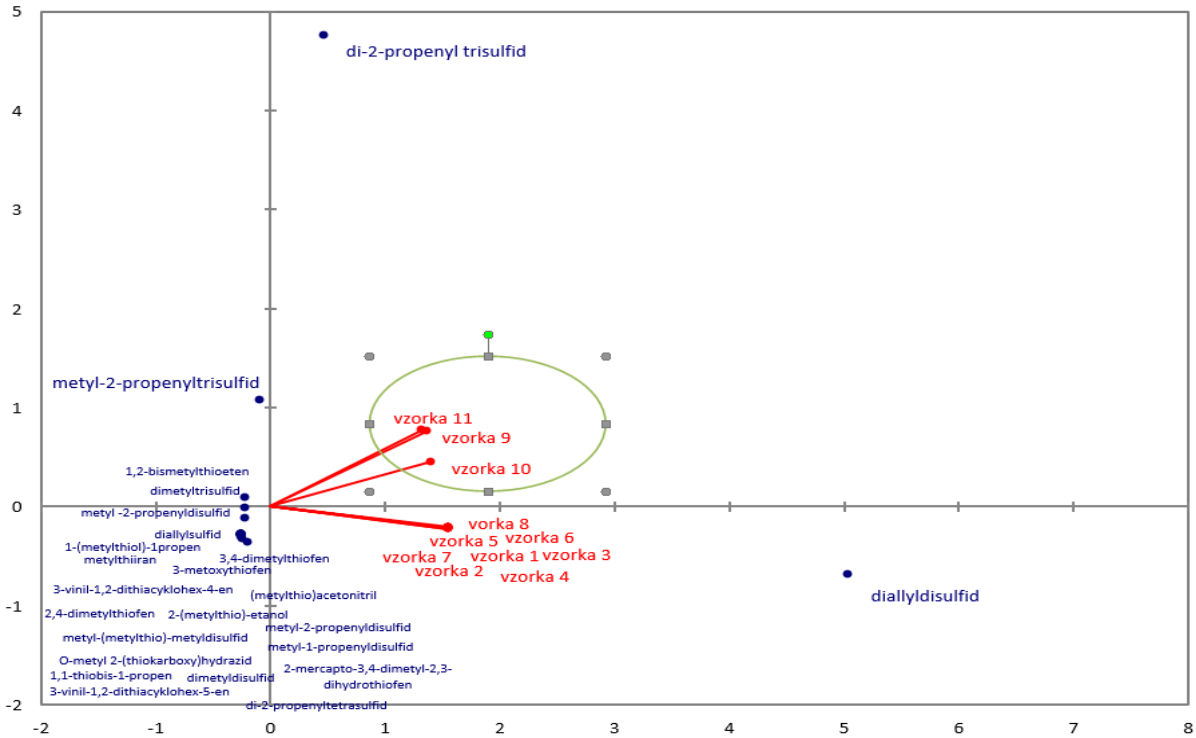


Obrázek 1.: Stanovení sušiny ve vzorcích česneku

Příklad analýzy tekavých látek ukazuje chromatogram na obrázku 2. Diallyldisulfid je sirná látka, která byla nejvíc zastoupena ve vzorcích česneků. U čerstvých česneků tvořila až 90 % ze všech těkavých látek, co se shoduje s prací Grégorová *et al*.(2013).

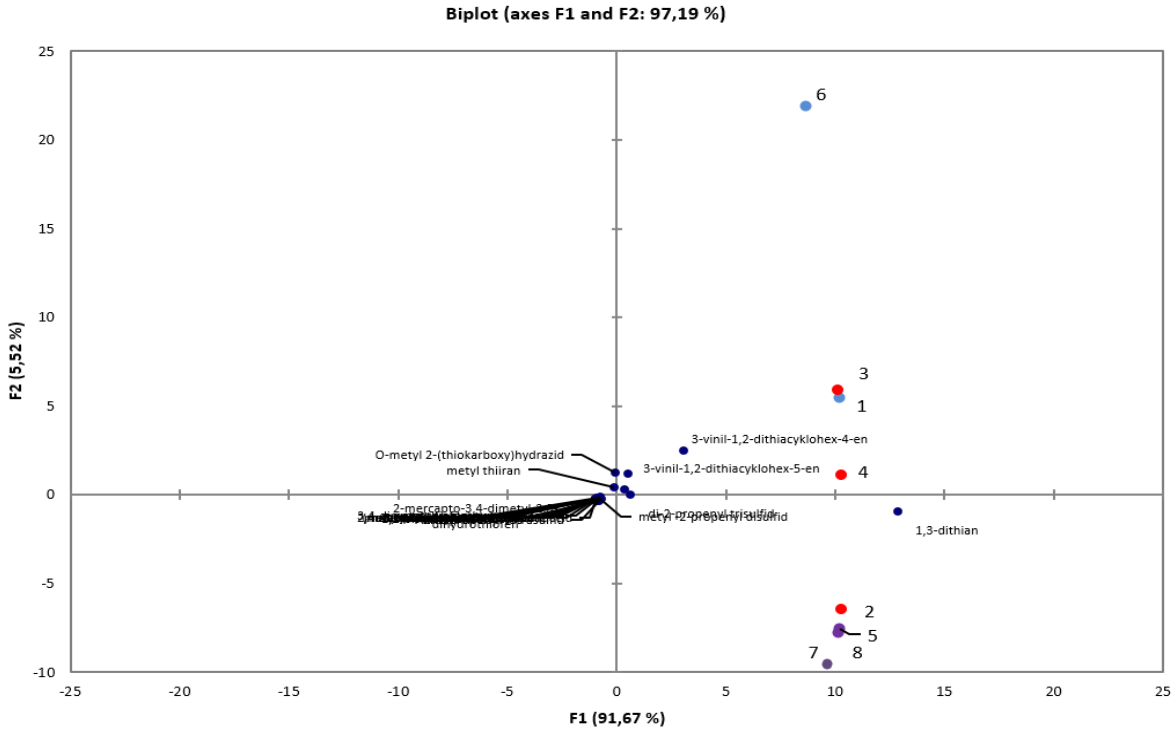


Obrázek 2.: Chromatogram těkavých látek v česneku
[1] methyltriiran [2] 1-(methylthiol)-prop-1-en [3] dimethyldisulfid [4] diallylsulfid [5] 1,3-dithian [6] O-methyl 2-(thiokarboxy)hydrazid [7] diallyldisulfid [8] (methylthio)acetonitril [9] 2-mercapto-3,4-dimethyl-2,3-dihydrothiofen [10] 3-vinyl-1,2-dithiacyklohex-4-en [11] di-2-propenyltrisulfid [12] 3-vinyl-1,2-dithiacyklohex-5-en [13] methyl-(methylthio)-methyl disulfid



Obrázek 3.: Porovnaní vzorek PCA analýzou na základe těkavých látek

U sušených česneků tvořil diallylsulfid 44 až 52 % ze všech těkavých látek. Další významnou látkou obsaženou v aroma sušených česneků byl di-2-propenyltrisulfid, který tvořil 20 až 35 %. Di-2-propenylsufidy vznikají při tepelné degradaci thiosufinátov, a protože sušené česneky sú už zpracované, tak se v nich vyskytují ve vyšších množstvích jako v česnecích čerstvých (Maarse, 1991). Při čerstvých česnecích nepřekročil di-2-propenyltrisulfid ani 1% z celkového počtu těkavých látek. Pomocí PCA analýzy se vyčlenily na základě obsahu diallylsulfidu ze skupiny vzorky sušených česneků (obrázek 3, zelená elipsa).



Obrázek 4.: Porovnání vzorek PCA analýzou (bez diallylsulfidu)

Po odstranění diallylsulfidu z proměnných se vzorky čerstvých česneků víc rozdělili, jak je ukázáno na obrázku 4. Červeně jsou zobrazeny české česneky, modře slovenské a fialově ostatní zahraniční česneky. Vzorky zahraničních česneků vytvořili skupinu, v které byl včleněn i český bio česnek číslo 2.

Závěr

Hodnotitelé nedokázali na základě senzorické analýzy rozeznat bio česnek od konvenčního česneku. Žádné rozdíly ve vonných ani chuťových látkách při různých způsobech pěstovaní česneku (bio, konvenčně) nebyly průkazné. U sušených česneků tvoří mimo diallyldisulfidu významné množství těkavých látek i di-2-propenyltrisulfid

Literatura

Grégorová, A.; Čížková, H.; Bulantová, I.; Rajchl, A.; Voldřich, M. Characteristics of Garlic of the Czech Origin. *Czech Journal of Food Sciences* **2013**, *3* (6), 581–588.

Maarse, H. Volatile Compounds in Food and Beverages, 1st ed.; Copyright: New York, 1991.

P 14

VÝZNAMNÉ SIRNÉ METABOLITY ČESNEKU SICILSKÉHO (*NECTAROSCORDUM SICULUM*)

Štefanová I., Kubec R.
Katedra aplikované chemie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 1457, 370 05 České Budějovice

ÚVOD

Návrat k tradiční medicíně v současnosti vede k výraznému růst počtu vědeckých studií, které mají za cíl vědecky podložit principy lidového léčitelství. Častým objektem těchto studií jsou rostliny čeledi Alliaceae (česnekovité), zejména česnek a cibule, které do tradiční medicíny neodmyslitelně patří již od dob starověkého Egypta[1]. Řada z těchto studií byla zaměřena na identifikaci sirných sloučenin čeledi Alliaceae, stanovení jejich biologické aktivity, objasnění vzniku těchto sloučenin, případně vliv reakčních podmínek na enzymaticky katalyzované reakce[1-7]. Cílem této práce bylo izolovat a spektrálně charakterizovat sirné sloučeniny česneku sicilského (*Nectaroscordum siculum*), u kterých bude následně provedena senzorická analýza a testování jejich biologických vlastností. Přestože mnoho studií prokázalo léčebné účinky čeledi Alliaceae, zůstává stále mnoho nepoznaných oblastí, pro které si tyto rostliny zaslouží detailnější zkoumání.

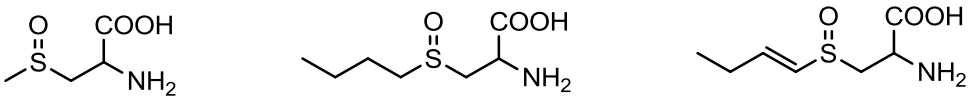
a) b)

Obrázek 4: *Allium siculum* a) cibulky[1], b) květ[2].

Nectaroscordum siculum

Nectaroscordum (Lindl.) Gren. & Godr. (Alliaceae) je malý podrod rodu *Allium* zahrnující pouze dva zástupce, *Nectaroscordum siculum* (**Obrázek 1a - b**) a *Nectaroscordum tripedale*. Obě rostliny jsou vzácné cibuloviny hojně využívány v zahradnictví.

Nectaroscordum siculum je původem z Malé Asie, jižní Francie a Sicílie. Někdy se také označuje jako sicilský medový česnek. Pro svou pronikavou vůni a česnekovou chuť se v Bulharsku využívá pro výrobu kořenící směsi samardala. Velice oblíbená po celém světě je i díky svým dekorativním vlastnostem a nenáročnému pěstování[6].



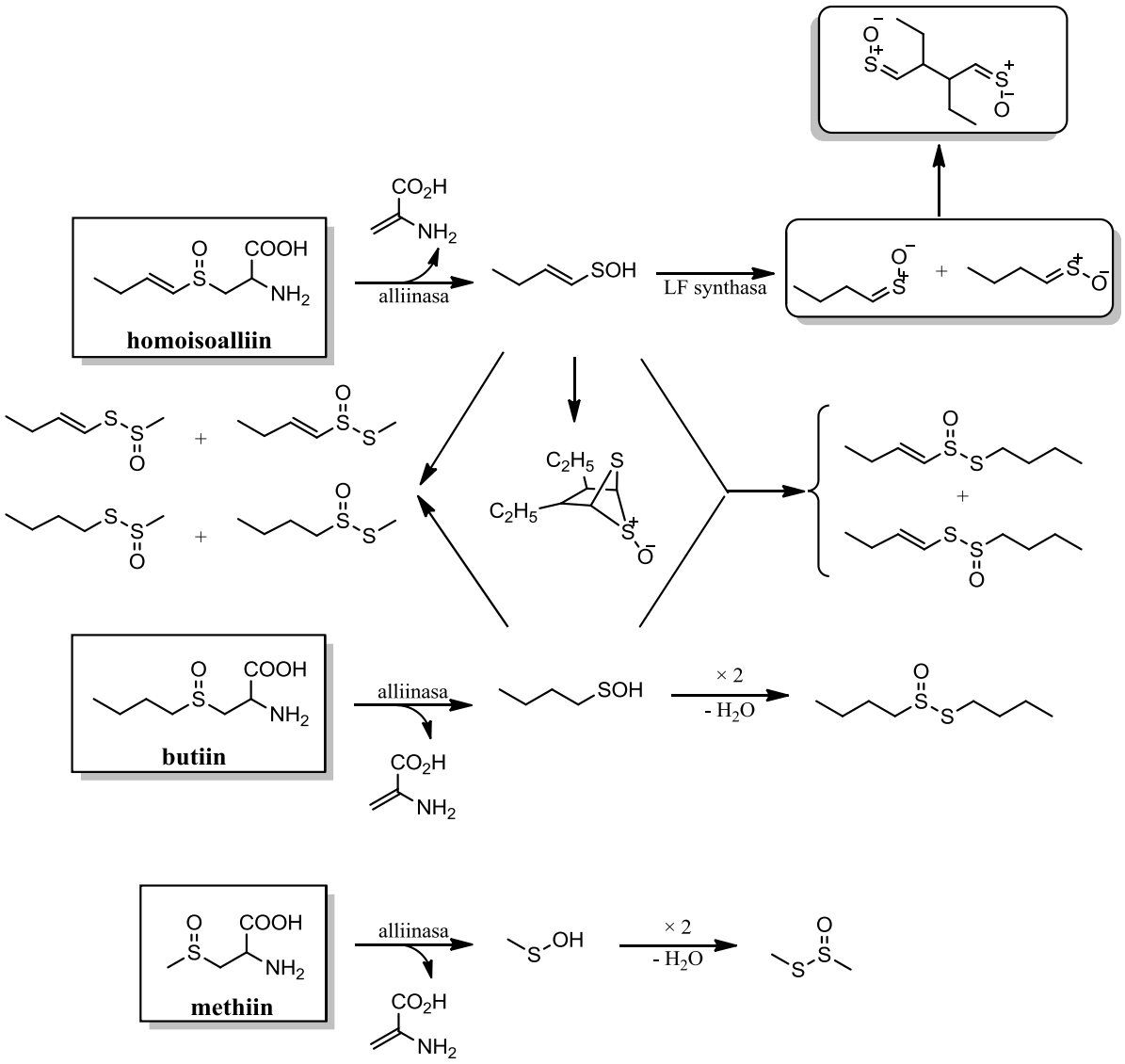
methiin **butiin** **homoisoalliin**

Obrázek 5: Prekurzory sirných látek rodu *Nectaroscordum siculum*[5].

V posledních letech byly detailnímu zkoumání podrobeny zejména prekurzory senzoricky aktivních sirných sloučenin. V případě *Nectaroscordum siculum* byly identifikovány celkem tři *S*-substituované deriváty cysteinu – methiin, butiin a homoisoalliin (**Obrázek 2**)[5].

[1] http://www.avonbulbs.co.uk/s/nectaroscordum-siculum/28/Product.aspx
[2] https://kuys.files.wordpress.com/2013/04/mediterranean-bells.jpg

Rozklad *S*-substituovyných derivátů cysteinu *Nectaroscordum siculum* – methiinu, butiinu a homoisoalliinu, popisuje **Obrázek 3**.



Obrázek 6: Mechanismus tvorby sirných látek *Nectaroscordum siculum*[5].

CÍL STUDIE

- Izolace a spektrální charakterizace nejvýznamnějších sirných sloučenin *Nectaroscordum siculum* (RP-HPLC, HR-MS, NMR)
- Syntéza některých sirných sloučenin

MATERIÁL A METODY

Materiál

Čerstvé cibulky *Nectaroscordum siculum* byly získány od firmy Eurobulb (Zwanenburg, Holandsko).

Metody

Izolace sloučenin *Nectaroscordum siculum*

Cílem tohoto kroku bylo optimalizovat izolaci nejvýznamnějších senzoricky aktivních sloučenin *Nectaroscordum siculum* pro následnou identifikaci a antimikrobiální testování extraktů. Pro extrakci byl použit CH_2Cl_2.

Byly zhomogenizovány celkem 3 kg čerstvých cibulek *Nectaroscordum siculum* s 3 l vody pomocí kuchyňského mixéru. Směs byla zfiltrována přes tkaninu a extrahována dvakrát CH_2Cl_2 v poměru 1:0,75 (v/v). Extrakt byl přesušen bezvodým $MgSO_4$ a opět zfiltrován. Po zakoncentrování na rotační vakuové odparce (RVO) při teplotě do 25 °C byl extrakt před dalšími analýzami uchován v mrazicím boxu při teplotě −28 °C. Extrakty byly analyzovány metodou RP-HPLC/PDA s použitím analytické kolony Varian Microsorb-MV 100-5 C18, 250 × 4,6 mm (5 µm) s nástřikovým objemem vzorku 20 µl a průtokem 0,9 ml/min. Složení mobilní fáze v průběhu analýzy: H_2O/CH_3CN 75/25 (0 min), 66/34 (20 min), 10/90 (24 min), 10/90 (32 min) a 75/25 (35 min).

Separace majoritních sloučenin

Chromatografická separace majoritních sloučenin ze získaných CH_2Cl_2 extraktů byla provedena metodou RP-HPLC/PDA s použitím preparativní kolony Varian Dynamax Microsorb 100-5 C18, 250 × 21,4 mm (5 µm) a nastřikovaným objemem vzorku 1 ml a průtokem 18 ml/min. Gradient mobilní fáze byl shodný s gradientem pro analýzu získaných extraktů.

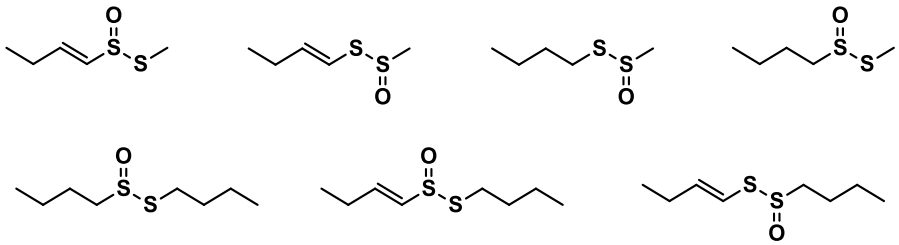
Z najímaných frakcí byl pomocí RVO při 25 °C odpařen acetonitril. Frakce byly poté extrahovány dvakrát CH_2Cl_2 v poměru 1:1 (v/v), spojené organické fáze byly přesušeny bezvodým $MgSO_4$ a odpařeny na RVO při 25 °C. Získané vzorky byly uchovávány v mrazicím boxu při teplotě −28 °C.

Syntéza sirných sloučenin *Nectaroscordum siculum*

Syntéza byla provedena oxidací příslušných disulfidů[6].

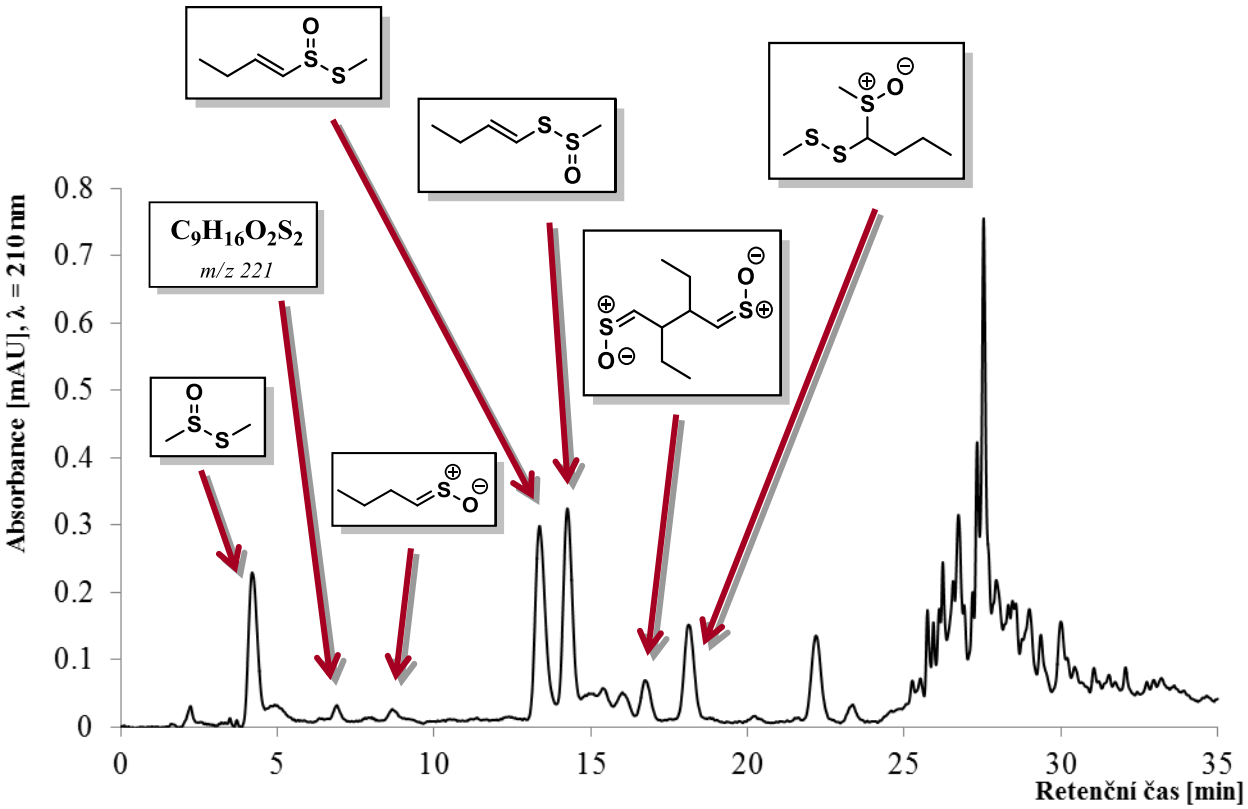
VÝSLEDKY

Přehled synteticky připravených sloučenin *Nectaroscordum siculum*, **Obrázek 4**.



Obrázek 7: Synteticky připravené sloučeniny *Nectaroscordum siculum*.

C8-HPLC/PDA chromatogram CH_2Cl_2 extraktu cibulek *Nectaroscordum siculum* udává **Obrázek 5**. Označené sloučeniny byly izolovány a charakterizovány pomocí NMR a HR-MS.



Obrázek 8: C8-HPLC/PDA chromatogram CH_2Cl_2 extraktu *Nectaroscordum siculum*, λ = 210 nm.

- ✓ izolováno a spektrálně charakterizováno bylo celkem 6 sloučenin
- ✓ struktura sloučeniny se sumárním vzorcem $C_9H_{16}O_2S_2$ zatím nebyla stanovena
- ✓ senzorická analýza a testování biologických účinků sloučenin *Nectaroscordum siculum* budou provedeny v následujícím období

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie vznikla za podpory Grantové agentury JU (číslo grantu GAJU 112/2016/Z)

LITERATURA

[1] *Breu, W. (1996). Allium cepa L. (onion) Part 1: Chemistry and analysis.Phytomedicine, 3(3), 293-306*

[2] *Dorsch, W. (1997). Allium cepa L (Onion): Part 2 chemistry, analysis and pharmacology. Phytomedicine, 3(4), 391-397.*

[3] *Fritsch, R. M., & Keusgen, M. (2006). Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus Allium L. (Alliaceae). Phytochemistry,67(11), 1127-1135.*

[4] *Hughes, J., Tregova, A., Tomsett, A. B., Jones, M. G., Cosstick, R., & Collin, H. A. (2005). Synthesis of the flavour precursor, alliin, in garlic tissue cultures.Phytochemistry, 66(2), 187-194.*

[5] *Kubec, R., Cody, R. B., Dane, A. J., Musah, R. A., Schraml, J., Vattekkatte, A., & Block, E. (2010). Applications of direct analysis in real time−mass spectrometry (DART-MS) in Allium chemistry.(Z)-Butanethial S-oxide and 1-butenyl thiosulfinates and their S-(E)-1-butenylcysteine S-oxide precursor from Allium siculum. Journal of agricultural and food chemistry, 58(2), 1121-1128.*

[6] *Kubec, R., Kim, S., McKeon, D. M., & Musah, R. A. (2002). Isolation of S-n-butylcysteine sulfoxide and six n-butyl-containing thiosulfinates from Allium siculum. Journal of natural products, 65(7), 960-964.*

[7] *Kubec, R., Svobodova, M., & Velíšek, J. (2000). Distribution of S-alk(en)ylcysteine sulfoxides in some Allium species. Identification of a new flavor precursor: S-ethylcysteine sulfoxide (ethiin). Journal of agricultural and food chemistry, 48(2), 428-433.*

P 15

STUDIUM MIGRACE SLOŽEK PAPÍROVÝCH OBALOVÝCH MATERIÁLŮ DO POTRAVIN A POTRAVINOVÝCH SIMULANTŮ

Vápenka L., Pláničková T., Kružík V., Dobiáš J.
Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, Praha 166 28

Úvod

Papírové obaly určené pro styk s potravinami mohou obsahovat rezidua xenobiotik, jejichž množství a koncentrace se významně zvyšuje se vzrůstajícím podílem recyklované papírové složky a s jejich potiskem. Význam a množství používaného recyklovaného papíru pro kontakt s potravinami neustále roste především z důvodů ekonomických i z důvodu větší ekologické odpovědnosti výrobců papírových obalů. Problematická je i přítomnost potisku na obalu, a přestože je potisk zpravidla umístěn na vnější straně obalu nepřicházející do přímého kontaktu s potravinou, může docházet k migraci složek tiskařských barev do potravin.

Mezi nejvýznamnější kontaminanty obalů na bázi papíru patří estery kyseliny ftalové, pomocné látky používané při výrobě papíru (antrachinon), uhlovodíky minerálních olejů, složky tiskařských barev v podobě rozpouštědel (diisopropylnaftaleny) nebo fotoiniciátorů (benzofenon a jeho deriváty), perfluorované organické sloučeniny, bisfenoly, neftalátová změkčovadla a další [1, 2, 3]. Dalším faktorem ovlivňujícím bezpečnost těchto materiálů je nejednotná evropská legislativa, která stále není pro tento typ obalů harmonizována, a nedostačující česká národní legislativa vycházející z předpisů s doposud neaktualizovaným seznamem látek používaných při výrobě papíru, který plně nezohledňuje rizika plynoucí z obsahu xenobiotik v těchto materiálech. Cílem této studie bylo posoudit riziko migrace antrachinonu, 2,6-diisopropylnaftalenu a bis(2-ethylehexyl)-ftalátu, jakožto nejčastěji se vyskytujících kontaminantů, z obalů na bázi papíru do potravin a jejich simulantů.

Vzorky papírů

Studium migrace bylo provedeno na: papíru bez vrstvy polymeru (PAP, tloušťka 84 μm, plošná hmotnost 70 $g \cdot m^{-2}$), papíru s vrstvou polyethylenu nízké hustoty (PAP/LDPE, tloušťka 62 μm, plošná hmotnost 65 $g \cdot m^{-2}$) a papíru s vrstvou biaxiálně orientovaného polypropylenu (PAP/BOPP, tloušťka 62 μm, plošná hmotnost 65 $g \cdot m^{-2}$). Jako potravina byla použita bílá dlouhozrnná rýže a simulantem suchých potravin byl Tenax (poly-2,6-difenylen oxid).

Příprava vzorků a migračních testů

Na výřezy papíru o ploše 1 dm^2 byly sprejově naneseny migranty (směsný roztok antrachinonu, 2,6-diisopropylnaftalenu a bis(2-ethylehexyl)-ftalátu v methanolu) a to na úrovni 50 $\mu g \cdot dm^{-2}$ (46,7 až 56,3 $\mu g \cdot dm^{-2}$). Výřezy papírů s vrstvou polymeru s nanesenými migranty byly svařeny do sáčků. V případě samotného papíru byly sáčky vytvořeny pomocí lepidla vytvořeného ze směsi škrobu a vody. Do sáčků rozměrech 5×10 cm byly následně umístěny buď 4 g Tenaxu nebo 10 g rýže. Poté byly sáčky uzavřeny svařením nebo lepidlem a umístěny do termostatu vytemperovaného na teplotu 60 °C.

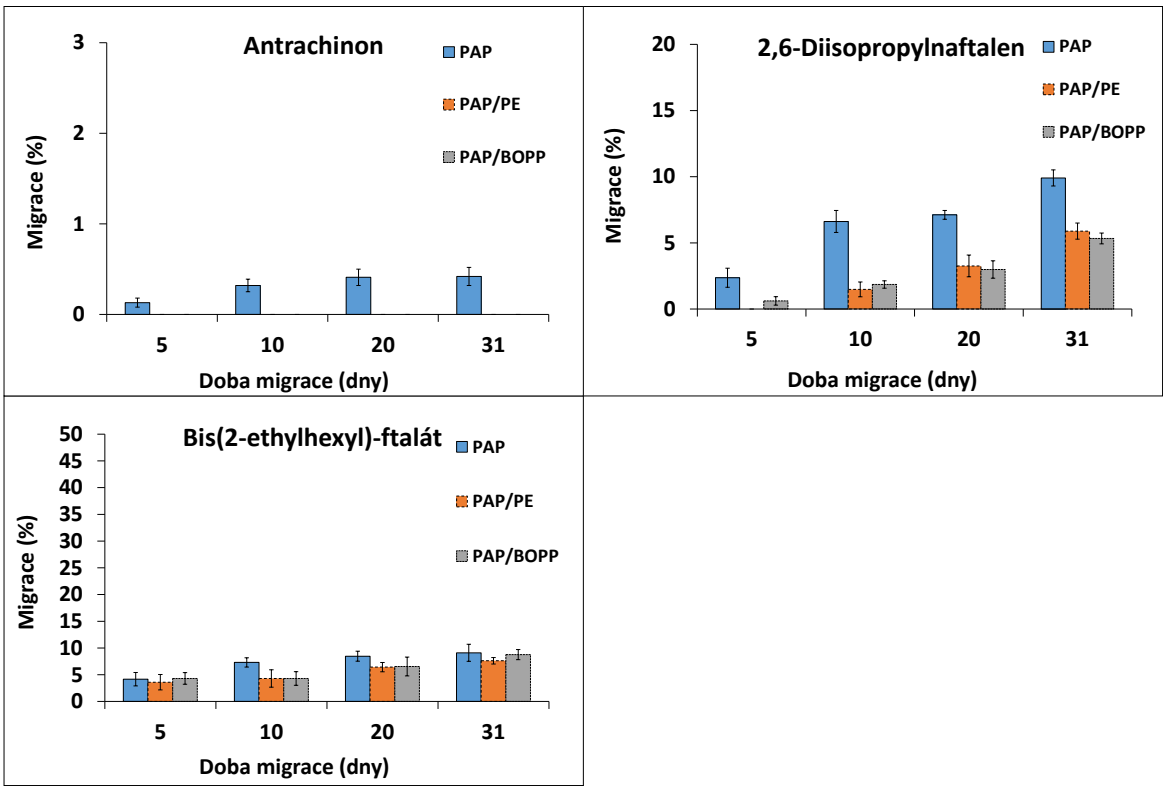
Analýza vzorků

V pravidelných intervalech byly provedeny odběry a analýzy celého obsahu v daném odebraném sáčku. Sledována byla koncentrace migrantů v rýži a Tenaxu po 5, 10, 20 a 31 dnech od umístění sáčků do termostatu. Migranty byly extrahovány: z Tenaxu acetonem (4 g Tenaxu, 10 ml acetonu, ultrazvuk 20 min při 25 °C, odstředění 5 min při 5000 $ot \cdot min^{-1}$) a z rýže metodou na principu QuEChERS (10 g homogenizované rýže, 10 ml destilované vody, protřepání, odležení, přidání 10 ml acetonitrilu, ultrazvuk 20 min při 25 °C, přidání 4 g $MgSO_4$ a 1 g NaCl, protřepání, odstředění 5 min při 5000 $ot \cdot min^{-1}$). Analýza extraktů byla provedena na GC-MS Agilent 6890 s hmotnostním detektorem Agilent 5973N, hodnota electron impact ionization

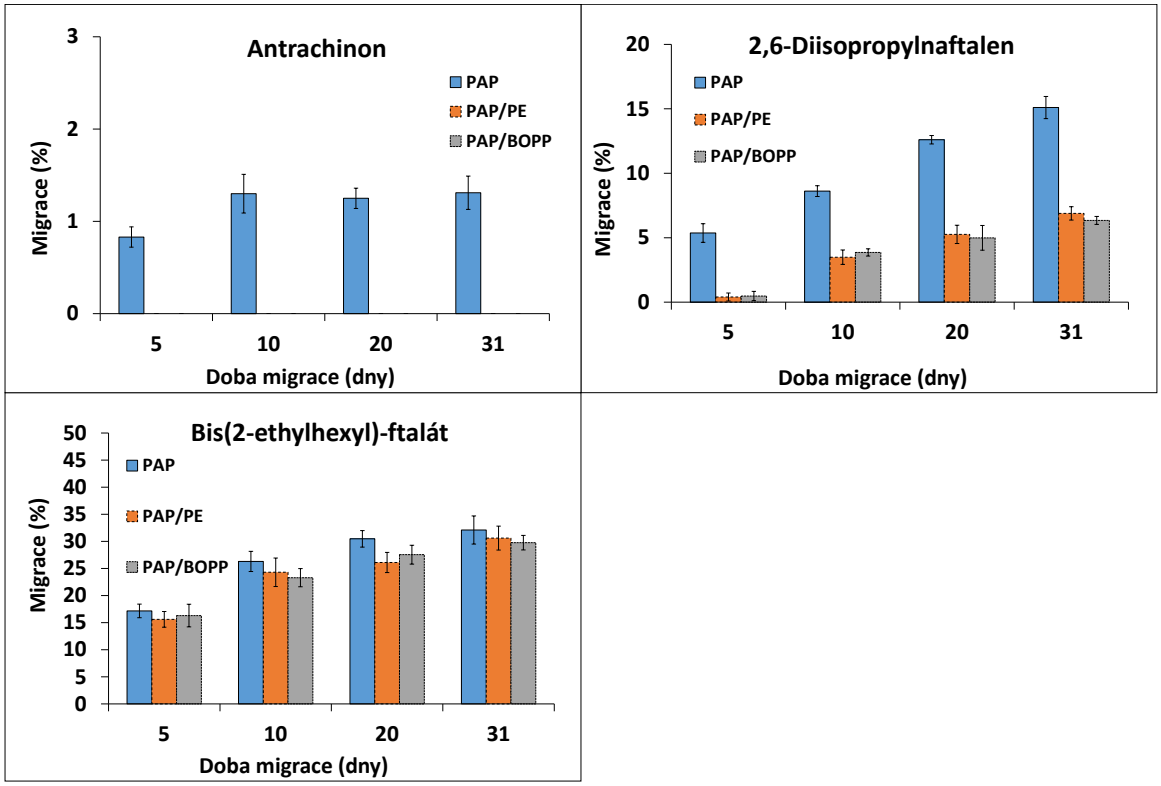
70 eV, teplota zdroje 230 °C, teplota analyzátoru 150 °C, kapilární kolona DB-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), helium o konstantním průtoku 1 ml/min a lineární rychlosti 36 cm/s, objem nástřiku 1 µl, split mode 1:1, teplota 280 °C. Teplota program chromatografické separace byl 40 °C po dobu 1 minuty při, poté nárůst teploty na 325 °C rychlostí 10 °C/ min a výdrž při 325 °C po dobu 15 minut. Všechna měření byla provedena ve třech paralelních stanoveních.

Výsledky

Z výsledků uvedených v grafech na obrázcích níže vyplývá, že v případě antrachinonu a 2,6-diisopropyl-naftalenu množství migrantů přešlých do zabaleného produktu významně ovlivňuje přítomnost vrstvy polymeru na papíru. V případě antrachinonu nedochází díky vrstvě LDPE a BOPP k migraci do Tenaxu ani rýže, přičemž migrace ze samotného papíru dosahovala maximálně 1,3 % z původně na papír naneseného množství. V případě 2,6-diisopropylnaftalenu již LDPE ani BOPP nepředstavovali absolutní bariéru vůči pronikání migrantu do zabaleného produktu. Nicméně funkční vrstvy úroveň migrace významně snižovaly a to o 56 % v případě migrace do Tenaxu a o 43 % v případě migrace do rýže oproti migraci ze samotného papíru, která dosahovala v případě Tenaxu 15,1 % a v případě rýže 9,9 % z množství migrantu původně naneseného na obalový materiál. Překvapivých výsledků bylo dosaženo při stanovení úrovně migrace bis(2-ethylehexyl)-ftalátu, kdy úroveň migrace přes LDPE a BOPP byla srovnatelná s migrací z papíru bez funkční vrstvy. U tohoto migrantu bylo zároveň dosaženo nevyšší úrovně migrace, která činila 32,1 % v případě Tenaxu a 9,1 % v případě rýže. Obě uvedené funkční vrstvy tedy nejsou bariérou proti pronikání bis(2-ethylehexyl)-ftalátu. V literatuře je vysoká úroveň migrace esterů kyseliny ftalové do suchých potravin nebo jejich simulantů již popsána [2, 3, 4]. V případě provedení migračního testu v menším uzavřeném prostoru, kdy je produkt zabalen v obalu a umístěn a uzavřen například do baňky se zátkou, dosahují úrovně migrace těchto látek až 90 %. V našem případě byly sáčky umístěny do relativně otevřeného prostoru, ve kterém se nepřepokládá úroveň migrace vyšší než 50 %, neboť pokud dochází k migraci látek z obalového materiálu do suché matrice, tak musí docházet i k migraci látek z obalu do okolního prostředí. Při znalosti maximální úrovně migrace v procentech, které bylo dosaženo zpravidla po testovaných 31 dnech při teplotě 60 °C, lze odhadnout úroveň migrace v reálném systému balení. Zároveň pokud známe koncentraci migrantu v obalovém materiálu vyjádřenou jako (hmotnost migrantu)·(hmotnost papíru)$^{-1}$, lze pomocí úrovně migrace v % vypočítat množství migrantu uvolněné do 1 kg potraviny a tento údaj porovnat s migračními limity vyplývajícími z Nařízení EK č. 10/2011 [5]. Tímto porovnáním bylo dosáhnuto zjednodušeného posouzení rizika migrace těchto látek do potravin pro spotřebitele.



Obrázek 1 Výsledky migračních testů z prostého papíru (PAP), papíru s vrstvou LDPE a papíru (PAP/LDPE) s vrstvou BOPP (PAP/BOPP) do rýže při teplotě 60 °C.



Obrázek 2 Výsledky migračních testů z prostého papíru (PAP), papíru s vrstvou LDPE a papíru (PAP/LDPE) s vrstvou BOPP (PAP/BOPP) do Tenaxu při teplotě 60 °C.

Závěr

Při kontaktu papíru se suchými potravinami dochází k migraci antrachinonu, 2,6-diisopropyl-naftalenu a bis(2-ethylhexyl)-ftalátu do potraviny, přičemž míra této migrace závisí na:

- povaze materiálu, do něhož migrace probíhá,
- přítomnosti a typu funkční vrstvy polymeru na testovaném papíru,
- povaze migrantu.

Funkční vrstvy v podobě PE a PP účinně brání migraci antrachinonu a 2,6-diisopropylnaftalenu, míra migrace bis(2-ethylhexyl)-ftalátu není těmito funkčními vrstvami významně ovlivněna.

I přesto, že výsledky mnoha prací zabývajících se kontaminací obalových materiálů na bázi papíru poukazují na znepokojivou situaci, která souvisí s negativním dopadem (vyšší počet a obsah xenobiotik) stále širšího využití recyklovaného papíru do obalů pro kontakt s potravinami, z výše uvedených výsledků vyplývá, že migrace antrachinonu, 2,6-diisopropylnaftalenu a bis(2-ethylehexyl)-ftalátu do suchých potravin nepředstavuje riziko pro spotřebitele. Úroveň migrace byla u všech třech migrantů pod limitem stanoveným Nařízením EK č. 10/2011 [5]. Pro komplexní posouzení rizika bude zapotřebí nutné provést vyšší počet migračních testů širší skupiny potencionálních migrantů přítomných v papírových obalech do větší skupiny potravin. Zároveň by mělo dojít k vytvoření jednotných pravidel v rámci celé Evropské unie pro využití a aplikace papírových obalů, ve kterých je přítomný recyklát, stejně jako k vytvoření obdobné legislativní opory, jenž je zavedena pro výrobky z plastů, a která by regulovala přítomnost xenobiotik pro papíry určené k přímému styku s potravinami a snižovala tak potencionální riziko pro spotřebitele vyplývající z aplikace těchto materiálů.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016): A1_FPBT_2016_002 a A2_FPBT_2016_024.

Literatura

1. Binderup, M.-L.; Pedersen, G. A.; Vinggaard, A. M.; Rasmussen, E. S.; Rosenquist, H.; Cederberg, T.: Toxicity testing and chemical analyses of recycles fibre-based paper for food contact. *Food Additives and Contaminants*, 2002, 19, 13-28.
2. Triantafyllou, V. I.; Akrida-Demertzi, K.; Demertzis, P. G.: A study on the migration of organic pollutants from recycled paperboard packaging materials to solid food matrices. *Food Chemistry*, 2007, 101: 1759-1769.
3. Suciu, N. A.; Tiberto, F.; Vasileiadis, S.; Lamastra, L.; Trevisan, M.: Recycled paper-paperboard for food contact materials: Contaminants suspected and migration into foods and food simulant. *Food Chemistry*, 2013, 141: 4146-4151.
4. Aurela, B.; Kulmala, H.; Söderhjelm, L.: Phthalates in paper and board packaging and their migration into Tenax and sugar. *Food Additives and Contaminants*, 1999, 16, 571-577.
5. Nařízení EK č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. *Úřední věstník Evropské unie* L 12/1 (2011).

P 16

HEMOLYTICKÁ AKTIVITA ČELEDI ČIRŮVKOVITÝCH

Hauser J., Pudil F.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

Houbaření patří v některých zemích k oblíbeným koníčkům. Mezi nejvášnivější houbaře na světě patří Češi. Dále je houbaření a pěstování hub rozšířeno také v zemích Evropy ležících severovýchodně od České republiky např.: na Slovensku, Polsku, Rusku. Ve zbytku Evropy není tato záliba tak rozšířená, kromě některých oblastí Skandinávie. [1, 2]

Jedním ze sbíraných jedlých druhů hub jsou houby z čeledi Čirůvkovitých (*Tricholomataceae*). Čirůvkovité houby tvoří velkou skupinu lupenatých hub, které se řadí do oddělení stopkovýtrusné houby (*Basidiomycota*). Jsou to saprofytické houby, to znamená, že rozkládají odumřelé dřevo nebo listy. Tím pádem čirůvky žijí v symbióze s listnatými stromy. [1, 2]

Čirůvka fialová (*Lepista nuda*) | **Čirůvka dvoubarvá** (*Lepista personata*) | **Čirůvka mýdlová** (*Tricholoma saponaceum*)

Obr. 1: Analyzované druhy vyšších hub na svém přirozeném stanovišti. [1, 2] převzato a upraveno

Čirůvka fialová (*Lepista nuda*) je podzimní jedlá houba z čeledi čirůvkovitých nápadná svým fialovým zbarvením. Roste velmi hojně od září do listopadu (prosince). Najdeme ji v lesích všech typů, ale i v hájích, sadech, zahradách, hlavně v místech bohatých na humus, kde je větší množství organické hmoty (spadané listí, tlející dřevní hmota). Čirůvka fialová je oblíbená a chutná jedlá houba. Syrové či nedostatečně tepelně upravené plodnice jsou však jedovaté a mohou způsobit hemolýzu. Tyto toxiny (**hemolysin**) rozkládající červené krvinky se však tepelnou úpravou rozkládají; vařené plodnice jsou neškodné. Další vlastností je snižování krevního tlaku. Dále bylo odhaleno, že ethanolický extrakt čirůvky fialové má antimikrobiální a antioxidační vlastnost. Zase metanolové extrakty z čirůvky fialové působí proti některým kmenům bakterií, jakými jsou například *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* nebo *Salmonella thyphimurium*, ale také proti kvasince *Candida albicans*. [1, 3]

Čirůvka dvoubarvá (*Lepista personata*), jedná o jedlou houbu, která roste na podzim (od září až do konce listopadu), hojně v trávě na okrajích lesa i mimo něj, na lukách a v zahradách. Čirůvka dvoubarvá není tak chutná, a proto je dobré míchat ji s jinými druhy hub. Často bývá tato čirůvka laickou veřejnosti zaměňována za částečně „jedovatou“ čirůvku fialovou. [1, 2]

Dále z čirůvkovitých hemolytickou aktivitu má **Čirůvka mýdlová** (*Tricholoma saponaceum*), ale ta je v současné době považovaná za nejedlou nebo slabě jedovatou. Tuto čirůvku prozradí její aromatický mýdlový pach a na řezu růžovějící dužnina. [1, 2]

Hemolýza je porušení cytoplazmatické membrány červených krvinek (erytrocytů) viz Obr. 2. Při silné hemolýze dochází ke snížení koncentrace hemoglobinu v krvi. Tento stav se nazývá **chudokrevnost** neboli **anémie.** U lidí s tímto problémem se vyskytují nespecifické a specifické příznaky. Nespecifické příznaky jsou např.: únavnost, malátnost, nevýkonnost, slabost, závratě, poruchy soustředivosti. Specifická pro hemolytickou anémii je žloutenka. [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10]

Obr. 2: Hemolýza – rozpad červených krvinek (erytrocytů). [10]

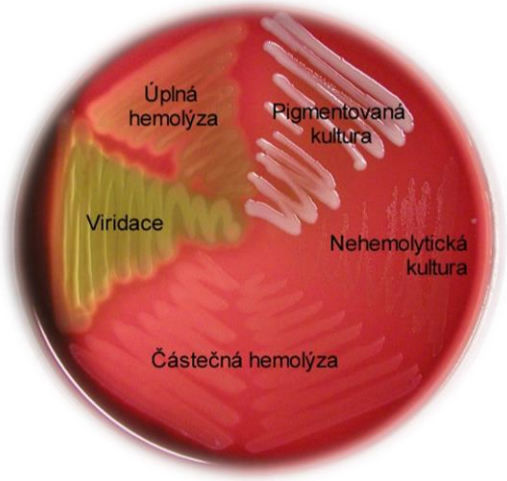
Uvolněný hemoglobin z krvinek se rozkládá odštěpením železa a zpracováním se mění na žluté barvivo bilirubin, který je poté odváděn vylučovací soustavou z těla ven. [5, 9, 10]

Hemolýzu lze sledovat pomoci **hemolytické aktivity.** Hemolytická aktivita je proces, při kterém dochází k rozkladu krevní složky v agaru pomoci hemolysinů. Hemolýzu rozlišujeme (Obr. 3) podle typu aktivity: [4, 7, 8, 10]

α-hemolytická aktivita — částečný rozklad hemoglobinu, doprovázené zeleným zabarvením (vzniká zelený verdoglobin) tzv. viridace

β-hemolytická aktivita — kompletní rozklad červených krvinek v okolí vzorku

γ-hemolytická aktivita — žádná hemolýza



Obr. 3: Rozdělení hemolytické aktivity. [10]

Materiál a metody

K analýze byly vybrány tyto zástupci čeledi Čirůvkovitých: Čirůvka fialová (*Lepista nuda*), Čirůvka dvoubarvá (*Lepista personata*), Čirůvka mýdlová (*Tricholoma saponaceum*), které byly sebrány v Brdských lesích roku 2015.

Na zjištění hemolytické aktivity čirůvek byla vybrána kvalitativní metoda a to **kultivační (plotnová) metoda** na krevním agaru. Z jednotlivých druhů hub byly různě připraveny extrakty, které měli simulovat běžné způsoby úprav hub.

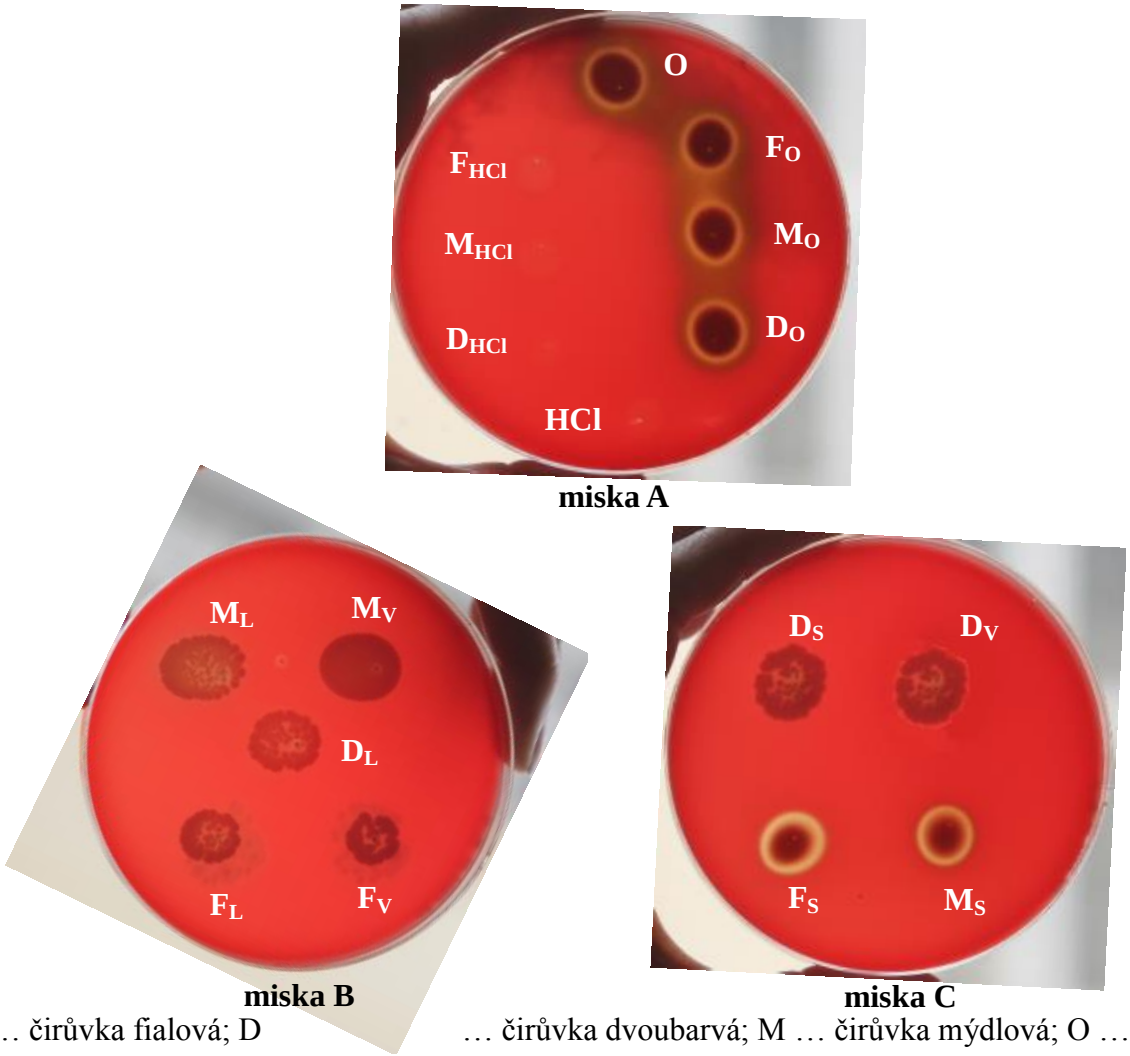
Vaření čirůvek probíhalo při cca 100 °C po dobu 1 hodiny, Konzervace v kyselém nálevu se provedla tak že k čirůvkám se přidala 8% ocet (kys. octová) a celá směs se vařila při cca 100 °C po dobu 30 minut. Simulace trávení se provedla bez přítomnosti enzymu a to tak, že k čirůvce se přidalo v nadbytku kys. chlorovodíková o pH = 2 a nechala se temperovat 40 min při cca 37 °C. Vzniklé extrakty jednotlivých čirůvek po technologických úpravách byly aplikovány na Petriho misky.

Do Petriho misek se zatuhlým krevním agarem byly sterilně vypíchnuté jamky, do kterých se aplikovalo 20 µl různě připravených extraktu z hub. Hotové Petriho misky s jednotlivými extrakty byly kultivovány při 37 °C po dobu 18 hodin. Po kultivaci bylo zjištěno, jestli jednotlivé extrakty hub mají nebo nemají hemolytickou aktivitu a dále jestli na ní mají vliv i technologické postupy.

Výsledky a diskuse

Touto práci bylo zjistit, jestli tyto druhy čirůvek mají nebo nemají hemolytickou aktivitu a dále jestli různé typy úprav hub nám tuto hemolytickou aktivitu deaktivují. A proto byla zvolena kvalitativní metoda pro zjištění hemolytické aktivity a to kultivační metoda.

Analýza extraktu ze syrových čirůvek nám ukázala (viz. Obr. 4 miska C), že hemolytickou aktivitu mají jenom Čirůvky fialová a mýdlová. Jedná se o α-hemolytickou aktivitu tedy částečnou s viridaci (zelené zbarvení okolo extraktu). Dále bylo zjištěno, že Čirůvka dvoubarvá za syrova tuto hemolytickou aktivitu nemá.



F … čirůvka fialová; D … čirůvka dvoubarvá; M … čirůvka mýdlová; O … blank 8% octa; HCl … blank HCl o pH = 2; $_S$ … syrova čirůvka; $_L$ … lyofilizovaná čirůvka; $_V$ … vařená čirůvka; $_O$ … konzervovaná octem; $_{HCl}$ … simulace trávení v žaludku

Obr. 4: Výsledky hemolytické aktivity čirůvek při různých typech úprav. (první písmeno určuje druh čirůvky a indexy znázorňuje technologickou úpravu čirůvek)

Výsledky jednotných typů úprav čirůvek jsou znázorněny na Obr. 4. Jak je vidět tak při lyofilizaci a vaření všech třech čirůvek nedošlo k reakci extraktu s hemoglobinem v krevním agaru → tak nemají hemolytickou aktivitu. Jen u nich došlo k nárůstu houbového podloží tzv. houbového mycelia. Čirůvky, které byly podrobeny kyselé konzervaci pomoci 8% octa a HCl, která měla simulovat trávení v žaludku bez enzymu, (viz Obr. 4 miska A), tak u extraktu nebyla pozorována hemolytická aktivita a ani nárůst houbového mycelia.

Dále je na Obr. 4 (miska A) vidět, že došlo k negativně falešné reakci, kde nám vzniklo zelené zbarvení okolo nástřiku extraktu čistého 8 % octa. To je zapříčiněno, že zde došlo k rozkladu hemoglobinu, který zde z reagoval s kyselinou octovou (v nadbytku) → za vzniku zeleného zbarvení (odštěpením centrálního atomu Fe a otevřením porfyrinového kruhu). [11]

Závěr

Výsledky nám ukázali, že hemolytickou aktivitu mají za syrova jenom Čirůvky fialová a mýdlová. Pro deaktivaci hemolytické aktivity stačí, aby tyto druhy čirůvek byly dostatečně tepelné opracovány. (Ale to to pravidlo by se mělo dodržovat u všech jedlých hub, aby se předešlo k zbytečným komplikacím se svým zdravím.)

Dále se ukázalo, že nezáleží na typu technologické úpravy hub, při všech došlo k deaktivaci hemolytické aktivity u analyzovaných druhů čirůvek.

Seznam literatury:

1. Hagara, L.; Antonín, V.; Baier, J. *Velký atlas hub*; Ottovo nakladatelství: Praha, 2006.
2. Mikšík, M. *Poznáváme jarní houby*, 1st ed.; Nakladatelství Grada Publishing, a.s.: Praha 7, 2013.
3. Pinto, S.; Barros, L.; Sousa, M. J.; Ferreira, I. C. F. R. Chemical characterization and antioxidant properties of Lepista nuda fruiting bodies and mycelia obtained by in vitro culture: Effects of collection habitat and culture media. *Food Res. Int.* **2013**, *51*, 496–502.
4. Ruirui, D.; Hui, L. Establishment of a method for measuring total complement activity based on a hemolysis system using own red blood cells. *J. Immunol. Methods* **2016**, *430*, 21–27.
5. Manaargadoo-Catin, M.; Ali-Cherif, A.; Pougnas, J.; Perrin, C. Hemolysis by surfactants — A review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2016**, *228*, 1–16.
6. Todorova Petrova, D.; Cocisiu, G. A.; Eberle, Ch.; Rhode, K.; Brandhorst, G.; Walson, P. D.; Oellerich, M. Can the Roche hemolysis index be used for automated determination of cell-free hemoglobin? A comparison to photometric assays. *Clin. Biochem.* **2013**, *46*, 1298–1301.
7. Takada, K.; Fukatsu, A.; Otake, S.; Hirasawa, M. Isolation and characterization of hemolysin activated by reductant from Prevotella intermedia. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **2003**, *35*, 43–47.
8. Alves, M. J.; Ferreira, I. C. F. R.; Lourenço, I.; Costa, E.; Martins, A.; Pintado, M. Wild Mushroom Extracts as Inhibitors of Bacterial Biofilm Formation.*Pathogens* **2014**, *3*, 667–679.
9. Doménech-Carbó, A.; Villamón, E.; Luna, I.; Ramos, D.; Doménech-Casasús, C.; Cebrián-Torrejón, G. Transmembrane electrochemistry of erythrocytes: Direct electrochemical test for detecting hemolysis in whole blood. *Sens. Actuators, B* **2016**, *226*, 419–428.
10. Ray, G. C.; Ryan, K. J. *Sherris Medical Microbiology*, 4th ed.; McGraw-Hill Education: New York City, 2003
11. Velíšek, J.; Hajšlová, J. *Chemie Potravin 2*, 3rd ed.; OSSIS: Tábor, 2009.

Poděkování: *Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016). A dále bych chtěl poděkovat paní Ing. Janě Kadavé (z Ústavu Biochemie a mikrobiologie na VŠCHT Praha) za poskytnutí krevního agaru.*

P 17

AROMATICKÉ LÁTKY ČERSTVÝCH HUB

Pudil F.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

Typickým nositelem houbového aroma je známý „houbový alkohol“ 1-okten-3-ol. Složení těkavých látek v čerstvých plodnicích se při jejich zpracování rychle mění. K látkám, které přispívají k houbovému charakteru pachu patří další osmiuhlíkaté látky jako např. 3-oktanon, 3-oktanol, 1-okten-3-on. Plodnice některých hub obsahují i jiné složky s typickým pachem a často se tato vlastnost objevuje i v názvu houby.

Materiál

Plodnice čerstvých hub pocházely z tržní sítě v Praze a ze sběru ve Středočeském kraji. Záměrně byly vybrány méně běžné „nehřibovité“ houby bez ohledu na to, jestli zařazovány mezi jedlé.

Metody

Pro separaci těkavých látek byla využita kolona SAC-5 30m x 0,25mm s tloušťkou filmu 0,25 µm (Supelco, USA). Těkavé látky byly izolovány technikou SPME na vlákno 50/30µm DVB/Carboxen TM/PDMS StableFlex TM (Supelco, USA) při laboratorní teplotě po dobu 1hod. Desorpce byla realizována ve splittles režimu po dobu 3 min nebo split (1:10) při teplotě nástřiku 230 ^{o}C. Teplota kolony byla programována od 50 ^{o}C 3 min izotermně a dále rychlostí 5 ^{o}C/min do 220 ^{o}C. Hmotnostní spektra byla měřena v modu TIC při 70eV. Teplota zdroje byla 230 ^{o}C a teplota rozhraní 150 ^{o}C. Pro identifikaci byla využita elektronická knihovna NIST 2.0 (Agilent Technologies, USA). Každý vzorek byl analyzován postupně několikrát po sobě pro posouzení trendu změn ve složení těkavých látek.

Výsledky a diskuse

V čerstvých plodnicích hub s typicky houbovým nebo modifikovaným (viz. dále) aroma je nejvíce zastoupen 3-oktanon a 1-okten-3-ol, ale jejich obsah se již po několika hodinách výrazně snižuje a objevují se nové těkavé aromatické složky vzniklé degradací z netěkavých prekurzorů. První vlna sekundárních aromatických látek hub rychle vznikající při narušení tkáně enzymatickým účinkem se obtížně odlišuje od primárních aromatických látek, protože se jen obtížně najde zcela neporušená plodnice, a kromě toho již samotným sběrem dochází k narušení plodnice houby. Proto se vedle 1-okten-3-olu jako představitele typického primárního houbového aroma současně uplatňuje také jeho izomer 3-oktanon a později některé další osmiuhlíkaté složky vznikající dalšími reakcemi. Jsou to především další osmiuhlíkaté komponenty jako např. 3-oktanol. V menším zastoupení se v některých plodnicích nachází také 1-okten-3-on, který má kovově zemitý pach a zřejmě také přispívá k „houbovému“ charakteru aroma hub. Směs těchto těkavých látek je zřejmě zodpovědná za typické houbové aroma čerstvých hub.

Významným faktorem pro charakterizaci čerstvosti je stáří houbové plodnice a úroveň narušení tkáně při čištění nebo nakrájení po sběru, protože oba tyto faktory mají podstatný vliv na složení těkavých látek a kvalitu aroma. Při běžných teplotách jsou změny pozorovatelné již během hodin (při růstu) až minut (v případě narušení tkáně). Oba obtížně oddělitelné procesy významně ovlivňuje také teplota. Jedním z možných ukazatelů čerstvosti hub by u mnoha druhů mohl být poměr zastoupení 1-okten-3-olu a 3-oktanonu, protože nárůst obsahu 3-oktanonu zřejmě souvisí s úbytkem 1-okten-3-olu. Je proto obtížné posoudit, jestli obsah ketonu v čerstvých houbách je důsledkem jen izomerace alkoholu nebo jestli jej lze považovat i za složku primárního houbového aroma.

U mnoha druhů hub se v jejich aroma uplatňují i další senzoricky aktivní komponenty, které významně modifikují celkový vjem, a to jak směrem k příjemnějším, tak i k méně příjemným

pachům. V Tab. I jsou shrnuty výsledky analýz těkavých látek a jsou doplněny pokusem o klasifikaci celkového charakteristického aroma či pachu hub. V přehledu jsou uvedeny identifikované komponenty významně ovlivňující charakter pachu (kromě běžných výše charakterizovaných osmiuhlíkatých komponent). Vedle první skupiny typicky houbové a druhé s modifikovaným houbovým pachem se ukazují i druhy hub, které mají prakticky neznatelný pach nebo pro houby z laického pohledu pach netypický. V této skupině se mj. vyskytují některé pěstované druhy asijského původu.

Tabulka I.: Přehled vybraných těkavých látek detegovaných v plodnicích čerstvých hub metodou SPME GC-MS.

Český název	Latinský název	Komponenty	S
Lanýž letní	*Tuber aestivum*		1
Pestřec obecný	*Scleroderma citrinum*	1-okten-3-on, 2-okten, 1,3-oktadien	1
Strmělka anýzka	*Clitocybe odora*	4-methoxybenzaldehyd	2
Helmovka ředkvičková	*Mycena pura*	2-ketony n-C7-C11, 2-nonen-3-on(?)	2
Ryzec smrkový	*Lactarius deterrimus*	linalol, seskviterpeny	2
Václavka smrková	*Armillaria ostoyae*	monoterpeny	2
Žampion zahradní	*Agaricus hortensis*	dekanal, 1-okten-3-on	2
Žampion zápašný	*Agaricus xanthodermus*	fenol	2
Muchomůrka císařka	*Amanita caesarea*	alifatické estery	2
Hadovka smrdutá	*Phallus impudicus*	sulfidy	2
Smrž vysoký(?)	*Morchella elata*		2
Kačenka česká	*Verpa bohemica*	indol	2
Houževnatec jedlý	*Lentinus edodes*	formaldehyd, 1,2,4-trithiolan, sirné látky	2
Muchomůrka šedivka	*Amanita excelsa*	dekanal, nonanal, 2-ketony	2
Ucháč Neuwirthův	*Gyromitra Neuwrthii*	gyromitrin	2
Čirůvka dvoubarvá	*Lepista saeva*	1-undecen	3
Čirůvka fialová	*Lepista nuda*		3
Hlíva královská	*Pleurotus eringii*	1-undecen, limonen	3
Hlíva ustřičná	*Pleurotus ostreatus*	3-oktanolacetát	3
Liška obecná	*Cantharellus cibarius*	1,3-oktadien, 1-undecen	3
Líhovec moučný	*Hypsizygus marmoreus*	1-okten	3
Čirůvka májovka	*Calocybe gambosa*	linalol	3
Šupinovka nameko	*Pholiota nameko*	1-okten, oktan	3

Závěry

Složení těkavých látek získané popsanými metodami nevystihuje skutečné absolutní množství nalezených komponent, ale jejich relativní zastoupení v parní fázi s ohledem na použité sorpční podmínky. Vzhledem k velké variabilitě aroma hub, zejména z hlediska kvantitativního, to lépe charakterizuje kvalitativní rysy aroma nebo jeho změn. Orientačně je možno analyzované čerstvé plodnice podle subjektivně posuzovaného aroma a detegovaných těkavých látek klasifikovat do následujících skupin S1-S3.

Skupina **S1** - Typické a intenzívní houbové aroma – převažuje 3-oktanon a 1-okten-3-ol

Skupina **S2** - Slabé nebo netypické houbové aroma v souladu s vlastnostmi dalších přítomných komponent

Skupina **S3** - Celkově slabé aroma nebo málo odpovídající přítomnosti dalších komponent

V mnoha případech je typické aroma čerstvých hub také charakteristickým rysem významným pro správnou identifikaci houby laickými houbaři. Podobně i nepříjemný charakter aroma může v případě toxických druhů odradit od sběru.

Zdroje

Antonín V.: Encyklopedie hub a lišejníků, Academia, 2006.
Holec J., Beran M.: Přehled hub střední Evropy, Academia, 2012.
Hagara L.: Ottova encyklopedie hub, Ottovo nakladatelství, 2014.
Mikšík M.: 1000 českých a slovenských hub, Svojtka & Co., 2015.

P 18

BIOLOGICKY AKTIVNÍ SIRNÉ SLOUČENINY HOUŽEVNATCE JEDLÉHO

Kupcová K., Kubec R.
Katedra aplikované chemie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 1457, 370 05 České Budějovice

ÚVOD

Houby jsou svými příznivými účinky na lidský organismus známé po celá tisíciletí. Již od starověku byly oprávněně využívány nejen jakožto levný a výživově hodnotný zdroj potravy, ale také pro své léčivé účinky – ať už k prevenci či k léčbě samotné – v tradiční asijské medicíně. Existuje celá řada hub, jež mají zdraví posilující, regulační či léčivé účinky na různé oblasti lidského organismu, poškozeného nezdravým prostředím, dědičnými faktory či nevhodným životním stylem.

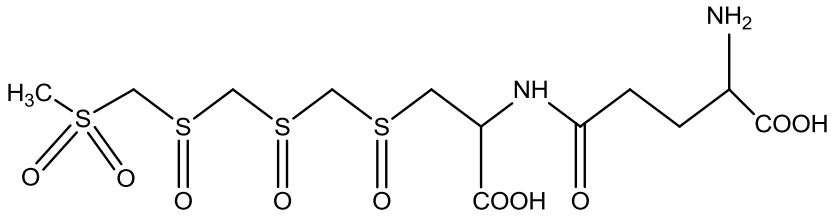
V tradiční čínské medicíně je nyní využíváno preventivních a léčivých účinků více než 270 druhů hub[1], přičemž mezi nejpopulárnější patří *Lentinula edodes*, shiitake nebo též houževnatec jedlý[2] (obr. 1). Shiitake je hned po pečárce dvouvýtrusé nejpěstovanější houbou a zaujímá tak druhé místo v celosvětovém objemu produkce a spotřeby mezi houbami. Hlavní zbraní houževnatce jedlého v boji proti civilizačním onemocněním je celkové posílení imunity, kterého je využíváno jakožto podpory v lékařství (např. onkologická a imunologická léčba) i ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

Studií, prokazujících léčivé účinky shiitake, je celá řada. Přesto zůstává mnoho neprozkoumaných oblastí, pro které si *Lentinula edodes* stále zaslouží pozornost vědeckých pracovníků.

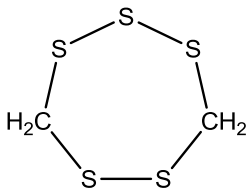
Obr. 1 Plodnice *Lentinula edodes* [i]

BIOLOGICKY AKTIVNÍ SLOUČENINY HOUŽEVNATCE JEDLÉHO

Mezi nejdéle známé sloučeniny *Lentinula edodes* patří lenthionin (1,2,3,5,6–pentathiepan) – hlavní aromatická sirná sloučenina (obr. 3), u kterého byly již v 70. letech minulého století odhaleny významné antibakteriální vlastnosti[4]. Na počátku 80. let pak byl zaznamenán mechanismus jeho vzniku *in vivo*; lenthionin vzniká enzymatickým rozkladem svého netěkavého prekurzoru, triviálně nazvaného lentiniková kyselina (obr. 2)[3].



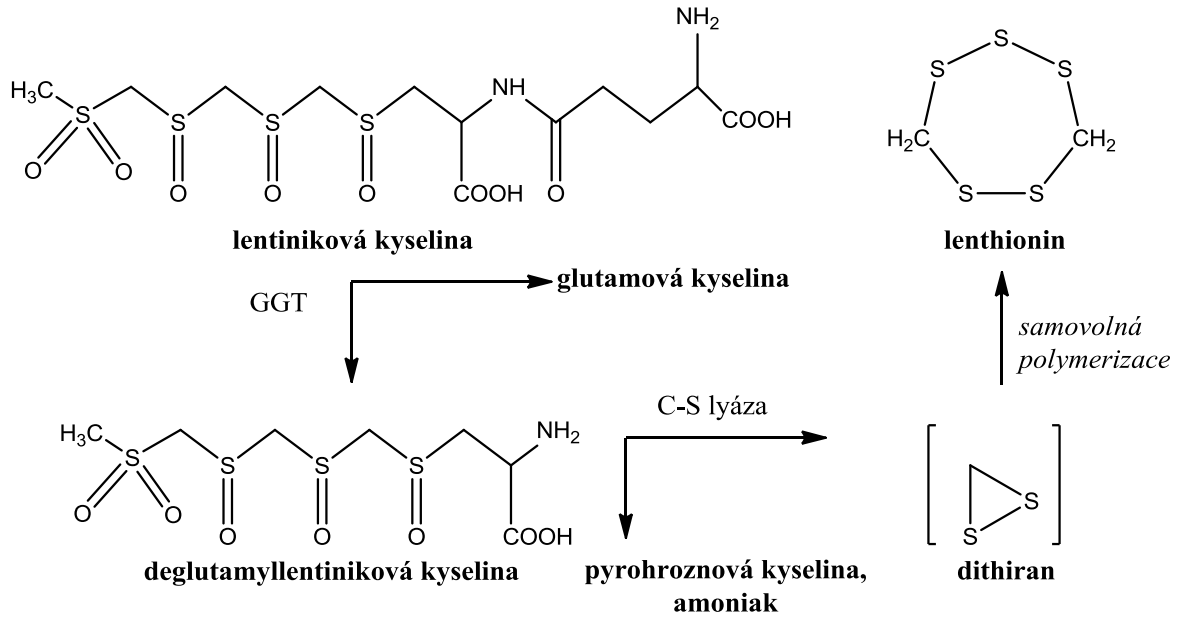
Obr. 2 Lentiniková kyselina



Obr. 3 Lenthionin

Biogenezi senzoricky aktivních sirných aromatických sloučenin lze rozdělit do dvou hlavních fází. Prvním krokem je rozklad lentinikové kyseliny, katalyzovaný nejprve γ–glutamyltransferázou (GGT, EC 2.3.2.2) za vzniku deglutamyllentinikové kyseliny a poté její rozklad S–alkyl–L–cysteinsulfoxid lyázou (C–S lyáza EC 4.4.1.4) na kyselinu pyrohroznovou, amoniak a 1,2–dithiran[3,5].

Druhým krokem by měla být samovolná polymerizace nestabilního 1,2–dithiranu na cyklické i lineární sirné sloučeniny, přičemž senzoricky nejvýznamnější z nich je právě lenthionin[6,7,8]. Zjednodušené schéma je naznačeno na obr. 4.



Obr. 4 Mechanismus tvorby sirných sloučenin *Lentinula edodes*

Tato studie je věnována houževnatci jedlému, konkrétně pak jeho biologicky a senzoricky aktivní sirné sloučenině lenthioninu. Je pravděpodobné, že jakožto jeho majoritní sirná složka by mohl mít pozitivní léčivé účinky na lidské zdraví.

CÍLE PRÁCE

Cílem této práce bylo syntetizovat lenthionin, otestovat jeho cytotoxicitu vůči lidským buněčným nádorovým liniím HeLa, PaTu a Hep2G (za použití MTT testu a časosběrné mikroskopie) a jeho antioxidační schopnosti (metodou DPPH).

MATERIÁL A METODY

Materiál

Hydroxid sodný, methanol, dichlormethan, síran hořečnatý, síra (Lach-Ner, Neratovice, Česká republika), ethanol (Merck, Darmstadt, Německo), RPMI–1640 a DMEM média, fetální hovězí sérum, L–glutamin, směs antibiotik a antimykotik (Gibco®, Life Technologies, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA), merkaptoethanol 1,1–difenyl–2–(2,4,6–trinitrofenyl)hydrazyl, 6–hydroxy–2,5,7,8–tetramethylchroman–2–karboxylová kyselina (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), 3–[4,5–dimethylthiazol–2–yl]–2,5–difenyltetrazolium bromid (Invitrogen Molecular Probes®, Life Technologies, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA), dimethylsulfoxid (Scharlau, Barcelona, Španělsko).

Metody

SYNTÉZA LENTHIONINU

Prvním cílem této studie byla syntéza dostatečného množství lenthioninu, který byl následně použit k testování jeho biologických vlastností. Syntéza lenthioninu byla provedena dle návodu publikovaného Moritem et al., 1967[4], avšak s drobnými úpravami. V tříhrdlé baňce umístěné v topném hnízdě a vybavené chladičem, teploměrem a přívodem dusíku bylo za stálého míchání

rozpuštěno 24 g hydroxidu sodného ve 250 ml ethanolu. Po úplném rozpuštění hydroxidu bylo přidáno 23 g bezvodé síry. Směs byla zahřáta na teplotu 80 °C a teplota držena 45 minut. Poté byla baňka za stálého míchání nechána chladnout na laboratorní teplotu. Následně do ní bylo přidáno 250 ml dichlormethanu. Vzhledem k exotermické povaze reakce teplota vzrostla na 34 °C. Baňka byla za stálého míchání nechána samovolně chladnout do dalšího dne.

Následující den bylo do tříhrdlé baňky přidáno 100 ml vody; roztok se zakalil. Poté byl míchán 30 minut a zfiltrován před filtrační papír. Po přidání dalších 100 ml destilované vody opět bylo nutné jej zfiltrovat a odstranit vodnou fázi. Dichlormethanová fáze byla celkem třikrát promyta 200 ml vody a vodná fáze obsahující ethanol tím byla odstraněna. Organická fáze byla přesušena 0,5 g bezvodého síranu hořečnatého; po následné filtraci byla za sníženého tlaku zkoncentrována na rotační vakuové odparce (teplota 40 °C, výsledný objem 50 ml) a nechána při 5 °C odstát přes noc. Vzniklé krystalky světle žluté barvy byly identifikovány jako lenthionin pomocí HPLC-PDA.

PŘÍPRAVA BUNĚČNÝCH LINIÍCH HeLa, PaTu a Hep2G

Testy toxicity byly prováděny na třech adherentních buněčných linií a to HeLa lidské rakoviny děložního čípku, PaTu lidské rakoviny slinivky břišní a Hep2G lidské rakoviny jater. Buňky byly kultivovány v inkubátoru (teplota 37 °C, relativní vlhkost vzduchu 90 %). Ke kultivaci byla použita média RPMI-1640 (pro linii HeLa) a DMEM (pro linie PaTu a Hep2G), oboje s 5% přídavkem fetálního hovězího séra, 1 % L-glutaminu, 1 % směsi antibiotik a antimykotik a 0,1 % 50nM merkaptoethanolu. Všechny experimenty s buněčnými liniemi byly provedeny v 96-ti jamkových sterilních mikrotitračních destičkách. Do jamek po obvodu destičky bylo pipetováno 200 µl deionizované vody, aby se omezilo odpařování z ostatních (testovacích) jamek. Buňky byly na destičku nasazeny vždy den před vlastním experimentem a to v rozdílném počtu. Pro experimenty s HeLa a Hep2G liniemi bylo nasazeno 4 x 10^4 buněk na jamku (200 µl), pro PaTu poloviční množství (z důvodu jejich rychlejšího růstu). Požadované koncentrace buněk jsem dosáhla jejich spočtením pomocí Bürkerovy komůrky a následně zředěním adekvátním médiem. Po nasazení buněk na destičku (200 µl do každé jamky) se buňky nechaly do druhého dne inkubovat při 37 °C a s 5% přísunem CO_2.

PŘÍPRAVA ROZTOKU LENTHIONINU K TESTOVÁNÍ CYTOTOXICITY

Lenthionin je sloučenina ve vodě a v polárních rozpouštědlech prakticky nerozpustná; rozpustnost v ethanolu je 0,26 %[9]. Proto byl připraven zásobní roztok lenthioninu v ethanolu o výchozí koncentraci 10,89 $mmol.l^{-1}$ (což odpovídá nasycenému roztoku, tedy rozpustnosti 0,26 %). Z něj byl následně připraven expoziční roztok, a to pětinásobným zředěním zásobního roztoku v RPMI médiu. Z expozičního roztoku bylo pipetováno 10 µl do 200µl testovací jamky s RPMI, tj. nejvyšší koncentrace lenthioninu, které bylo možné dosáhnout, byla 108,9 $\mu mol.l^{-1}$. Koncentrace ethanolu v testovací jamce nikdy nepřesáhla 1 %, a neovlivnila tak životaschopnost buněk. Test byl prováděn v triplikátech a celý proces byl opakován třikrát. Doba expozice byla 48 hodin, během kterých byla mikrotitrační destička umístěna v inkubačním boxu (37 °C, 5% CO_2).

MTT TEST

Metoda MTT testu je založena na izolaci buněk vzorku nádorové tkáně a jejich následné kultivaci *ex vivo* s cytostatiky o různých koncentracích. Postup je založen na redukci žlutého 3–[4,5–dimethylthiazol–2–yl]–2,5–difenyltetrazolium bromidu (MTT) na ve vodných roztocích nerozpustný modrý formazan; tato reakce probíhá na mitochondriální membráně živých buněk. Formazanové krystalky se následně rozpustí přidáním silného detergentu a zabarvení se vyhodnocuje spektrofotometricky při vlnových délkách v rozmezí 590 – 640 nm. Hodnota absorbance roztoku odpovídá množství metabolicky aktivních buněk[10,11].

MTT roztok byl připraven smícháním 4 mg MTT s 1 ml fyziologického roztoku, rozpuštěním v ultrazvukové lázni a zfiltrováním přes bakteriologický filtr (0,2 µm). Po 48 hodinách expozice bylo do každé jamky přidáno 10 µl tohoto roztoku. Destička byla další 4 hodiny inkubována při 37

°C. Médium s MTT z destičky bylo odstraněno a zbylé krystalky rozpuštěny ve 200 µl dimethylsulfoxidu na jamku. Destička byla na 30 minut vrácena do inkubačního boxu, poté byla pomocí Tecan Microplate Reader – Sunrise měřena absorbance a to při 590 nm (hlavní) a 640 nm (referenční).

ČASOSBĚRNÁ MIKROSKOPIE

Cytotoxické účinky lenthioninu na primární buňky byly monitorovány také za použití časosběrné mikroskopie. Invertovaný mikroskop Zeiss Axio Observer Z.1 byl vybaven komorou pro udržení stálé teploty (37 °C) a přívodem CO_2 (5 %). Na mikroskopu bylo nastaveno zaznamenání obrazu všech polí mikrotitrační destičky ve zvoleném časovém intervalu (20 minut) a po zvolenou dobu (48 hodin). Výsledkem je série fotografií, na kterých lze pozorovat změny v morfologii buněk, rychlost jejich dělení či smrt v závislosti na čase.

ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA

Antioxidační aktivita byla stanovena metodou používající DPPH, spočívající v reakci testované látky se stabilním roztokem DPPH (1,1–difenyl–2–(2,4,6–trinitrofenyl)hydrazylem). Zásobní methanolový roztok radikálu o koncentraci 0,634 $mmol.l^{-1}$ byl těsně před použitím zředěn desetkrát, čímž byl připraven vlastní pracovní roztok. Dále byla nachystána sada kalibračních roztoků 6–hydroxy–2,5,7,8–tetramethylchroman–2–karboxylové kyseliny (Troloxu) v methanolu v rozmezí 0,1 – 2,0 $mmol.l^{-1}$ a smíchána s pracovním roztokem DPPH v poměru 1:40. Ihned a následně po 30-ti minutách byl zaznamenán úbytek absorbance na spektrofotometru Thermo Biomate 5 při vlnové délce 515 nm. Lenthionin byl zředěn v ethanolu do maximálního nasycení (odpovídá 0,26% roztoku) a dále zpracován obdobně jako kalibrační vzorky.

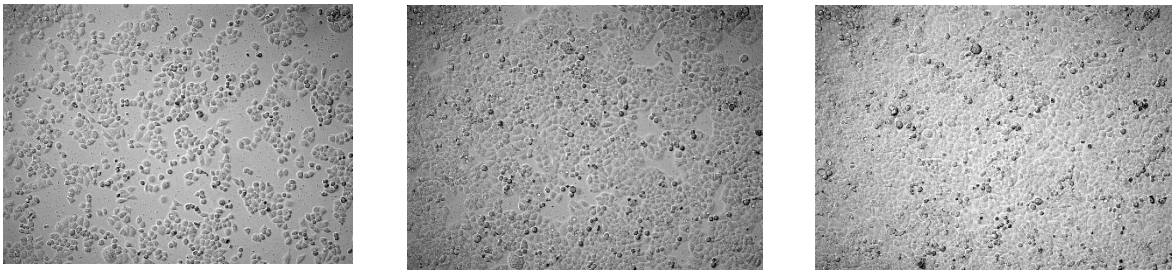
VÝSLEDKY

CYTOTOXICITA LENTHIONINU VŮČI BUNĚČNÝM LINIÍM LINIÍM HeLa, PaTu A Hep2G – MTT TEST

Z naměřených hodnot absorbancí u MTT testu byly zprůměrovány jednotlivé triplikáty testovacích jamek a všechny kontroly (tj. jamky s buňkami ve vhodných médiích bez extraktu). Poměr průměrů absorbancí testovaných jamek k průměru absorbancí kontrol představuje míru životaschopnosti buněk, vyjádřena je v procentech a nadto se směrodatnými odchylkami (tab. 1).

Tab. 1 Životaschopnost buněčných linií po ošetření lenthioninem

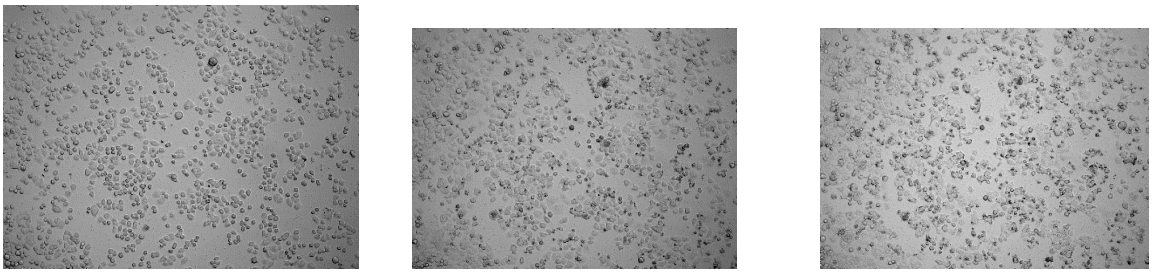
	$c_{lenthioninu}$ ($\mu mol.l^{-1}$)	108,9	54,45	10,89	5,445	1,089	0,5445	0,1089	0,05445
Hep2G	Životaschopnost buněk (%)	100 + 3	100 + 9	100 + 5	99 + 2	98 + 2	99 + 3	100 + 3	97 + 4
PaTu		79 + 5	79 + 1	88 + 3	95 + 3	97 + 7	100 + 6	100 + 3	99 + 3
HeLa		64 + 6	85 + 6	91 + 5	92 + 5	93 + 5	98 + 8	98 + 3	99 + 6



Obr. 5 Kontrolní HeLa buňky v různých růstových časech (0, 24 a 48 hodin)

CYTOTOXICITA LENTHIONINU VŮČI BUNĚČNÝM LINIÍM LINIÍM HeLa, PaTu A Hep2G – ČASOSBĚRNÁ MIKROSKOPIE

Cytotoxicita lenthioninu (obr. 6) vůči kontrolním buňkám (obr. 5) adherentní buněčné linie HeLa je demonstrována snímky zachycenými v časech 0, 24 a 48 hodin.



Obr. 6 HeLa buňky ošetřené lenthioninem v různých růstových časech (0, 24 a 48 hodin)

ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA LENTHIONINU

Antioxidační aktivita lenthioninu byla stanovena metodou používající DPPH a standard Trolox. Z kalibrační křivky Troloxu ($y = 0{,}0742 + 3{,}5462$; $R^2 = 0{,}9980$) bylo odvozeno, že nasycený ethanolový roztok lenthioninu odpovídal 199,5 $mmol.kg^{-1}$ TE (Trolox equivalent), což je 34% inhibice radikálu DPPH.

DISKUZE

Bylo potvrzeno, že lenthionin má pozitivní účinky na lidské zdraví i v jiných oblastech než v té dosud prokázané – antibakteriální. Ze stanovení cytotoxicity lenthioninu pomocí MTT testu vůči buněčným liniím HeLa, PaTu a Hep2G je zřejmé, že vykazuje nejvyšší aktivitu proti buňkám rakoviny děložního čípku, pro rakovinné buňky slinivky vykazoval lenthionin cytotoxicitu nižší a vůči jaterním buňkám byl prakticky zcela neúčinný. Totéž bylo potvrzeno časosběrnou mikroskopií. Antioxidační aktivitu vykazuje lenthionin poměrně vysokou – přibližně padesátinásobně vyšší, než je např. antioxidační aktivita extraktů z cibule *Allium cepa*[12].

REFERENCE

[1)] YING, C., Y. WANG a H. TANG. *Icons of medicinal fungi from China*. Beijing, China: Science Press, 1987, s. 575, ISBN 70-300-0195-8.

[2)] POUCHERET, P., F. FONS a S. RAPIOR. Biological and pharmacological activity of higher fungi: 20-year retrospective analysis. *Cryptogamie: Mycologie*. 2006, roč. 27, č. 4, s. 311-333.

[3)] YASUMOTO, K., K. IWAMI a H. MITSUDA. Enzyme-catalized evolution of lenthionine from lentinic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1971, roč. 35, č. 13, s. 2070-2080.

[4)] MORITA, K. a S. KOBAYASHI. Structure, and synthesis of lenthionine and its analogs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1967, roč. 15, č. 7, s. 988-993.

[5)] IWAMI, K., K. YASUMOTO a K. NAKAMURA. Reactivity of lentinus gamma-glutamyltransferase with lentinic acid as the principal endogenous substrate. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1975, roč. 39, č. 10, s. 1941-1946.

[6)] CHEN, C. C., S. E. LIU, C. M. WU a C. T. HO. Enzymic formation of volatile compounds in shiitake mushroom (*Lentinus edodes* Sing.). *Biogeneration of aromas: ACS symposium*. 1986, ser. 317, s. 176-183.

[7)] GMELIN, R., M. N´GALAMULUME-TREVES a G. HÖFLE. Epilentinsäure, ein neuer Aroma-und Geruchs-Precursor in *Tricholoma* Arten. *Phytochemistry*. 1980, roč. 19, č. 4, s. 553-557.

[8)] CHEN, C. C. a C. T. HO. Identification of sulfurous compounds of shiitake mushroom (*Lentinus edodes* Sing.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1986, č. 34, s. 830-833.

[9)] WADA, S., H. NAKATANI a K. MORITA. A new aroma-bearing substance from shiitake, an edible mushroom. *Journal of Food Science*. 1967, roč. 32, č. 5, s. 559-561.

[10)] MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983, roč. 65, č. 1-2, s. 55-63.

[11)] BLACK M. M. a F. D. SPEER Further observations on the effects of cancer chemoterapeutic agents on the in vitro dehydrogenase activity of cancer tissue. *Journal of the National Cancer Institute*. 1954, roč. 14, č. 5, s. 1147-1158.

[12)] LU, X., J. WANG, H. M. QUADIRI, C. F. ROSS, J. R. POWERS, J. TANG a B. A. RASCO. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*. 2011, roč. 129, č. 2, s. 637-644.

[i] Zdroj https://en.wikipedia.org/wiki/Shiitake#/media/File:Shiitakegrowing.jpg k 28. 6. 2016

Za finanční podporu děkujeme Grantové agentuře Jihočeské univerzity (GAJU 112/2016/Z).

P 19

OBSAH SODÍKU VE VYBRANÝCH POCHUTINÁCH

Bednář J.[1], Tesař Z., Macharáčková B.[1]

1) Ústav gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

Abstrakt

Sodík je pro lidský organismus nepostradatelným kationtem, pokud je však v těle přítomen v nadměrném množství, může způsobovat zdravotní problémy, jako je především hypertenze. Největším zdrojem sodíku pro náš organizmus je kuchyňská sůl. Dalšími zdroji jsou nejrůznější potraviny a pochutiny. Jedná se o masné výrobky a sýry, různé druhy pečiva, konzervované potraviny, instantní polévky aj. Cílem naší práce bylo zjistit obsah sodíku v pochutinách, které nejsou běžnou součástí jídel, ale jsou k těmto jídlům často přidávány k dochucení. Byla provedena analýza sodíku u 4 skupin pochutin – kečupy, hořčice, majonézy a dochucovací omáčky. Stanovení sodíku se provádělo metodou přímé potenciometrie na sodíkové iontově selektivní elektrodě 8611BNWP fy. Thermo Scientific a přístroji ThermoOrion 960. pH měřených vzorků bylo upraveno amoniakálním pufrem na hodnotu vyšší než 10,3, podle doporučení výrobce. Pro kontrolní analýzu měření byla zvolena metoda plamenové atomizace FAAS na přístroji ContrAA 700. Vzorky byly připraveny mineralizací na mokré cestě, tlakový rozklad byl prováděný v uzavřeném systému směsí HNO_3+H_2O_2. Měření probíhalo při vlnové délce 588,9953 nm.

Klíčová slova: sodík, přímá potenciometrie, sodíková iontově selektivní elektroda, plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS)

Úvod

Ačkoli je obecně známou skutečností, že sodík patří mezi esenciální prvky, není jasné, jaký je jeho minimální potřebný denní příjem. Odhaduje se, že celkový příjem pro dospělého je asi 500 mg za den. National Research Council (USA) doporučuje denní příjem sodíku méně než 2300 mg, WHO doporučuje denní příjem sodíku pro dospělého 2 g/den (ekvivalent 5 g NaCl / den).

Hlavní funkcí sodíkového iontu je udržování osmolality tělních tekutin, krevní izohydrie a retence vody. Je hlavním kationtem plazmy a extracelulární tekutiny. K dalším důležitým funkcím patří přenos nervových impulsů a účast v udržování acidobazické rovnováhy. Sodík je jako hlavní kationt přítomný především v mimobuněčných tělních tekutinách (jen malá část se nalézá v buňkách a část v kostech, které slouží jako jeho rezervoár) a jeho hladina je regulována pomocí funkce ledvin.

Ve vyhlášce č. 331/1997 Sb. v platném znění, je uvedeno v oddílu 2 členění jedlé soli na skupiny a podskupiny a v příloze č. 4 jsou uvedeny smyslové a chemické požadavky na jakost, v oddílu 4 je uvedena hořčice a v příloze č. 8 pak její členění na skupiny a podskupiny, v příloze č. 9 smyslové, fyzikální a chemické požadavky na jakost hořčic.

Požadavky na jakost majonéz jsou uvedeny ve vyhlášce č. 326/2001 Sb. v platném znění.

Materiál a metodika

Analyzované vzorky byly zakoupeny v tržní síti, celkem bylo analyzováno 7 vzorků kečupů, 6 vzorků hořčic, 9 vzorků majonéz a 22 vzorků dochucovacích omáček.

Vzorek byl navážen a kvantitativně převeden do homogenizátoru, homogenizován s deonizovanou vodou, část vzorku byla odebrána, pH bylo upraveno amoniakálním pufrem (pH vyšší než 10,3, podle doporučení výrobce). Stanovení sodíku se provádělo metodou přímé potenciometrie na sodíkové iontově selektivní elektrodě 8611BNWP fy. Thermo Scientific a

přístroji ThermoOrion 960. Z naměřených potenciálů byl funkcí lineární regrese sestrojen kalibrační graf. Koncentrace sodíkových iontů byla získána z naměřeného potenciálu příslušného vzorku a dosazením do regresní rovnice daného kalibračního grafu. Zjištěná hodnota byla základem pro přepočet na množství obsaženého sodíku (g v 100 g výrobku) v konkrétní pochutině. Následně byla tato hodnota použita i k přepočtu na obsah doporučeného denního příjmu sodíku GDA.

Pro kontrolní analýzu měření byla zvolena metoda plamenové atomizace FAAS na přístroji ContrAA 700. Vzorky byly připraveny mineralizací na mokré cestě, tlakový rozklad byl prováděný v uzavřeném systému směsí HNO_3+H_2O_2. Měření probíhalo při vlnové délce 588,9953 nm.

Výsledky a diskuze

Bylo analyzováno 7 vzorků kečupů od čtyř různých výrobců. V tabulce č.1 je uveden obsah sodíku v gramech na 100 g výrobku a denní doporučené množství GDA, které nám poskytuje informace o obsahu energie, živin a dalších látek (např. cukrů, nasycených mastných kyselin, sodíku) v jedné porci potravin či nápojů a jeho podílu na doporučeném denním množství.

Tabulka č. 1: Kečup – obsah sodíku

Kečup	Obsah sodíku v g / 100 g výrobku	GDA (%)
vzorek 1	1,90	79,2
vzorek 2	1,57	65,4
vzorek 3	1,49	62,1
vzorek 4	0,99	41,3
vzorek 5	0,99	41,3
vzorek 6	1,04	43,3
vzorek 7	1,11	46,3

Nejvyšší obsah sodíku byl u vzorku 1 (1,9 g ve 100 g výrobku), což odpovídá 79,2 % doporučeného denního množství sodíku. Nejmenší množství sodíku bylo u vzorků 4 a 5 (různé druhy kečupu od shodného výrobce), které odpovídaly 41,3 % doporučeného denního příjmu sodíku. Naměřené hodnoty u kečupů jsou v porovnání s doporučenou denní dávkou velmi vysoké. Každodenní používání těchto pochutin by mohlo mít významný vliv na celkový příjem sodíku do organismu, proto by se jejich konzumace měla omezit.

V tabulce č. 2 je uveden obsah sodíku u šesti vzorků hořčic od dvou výrobců. Velmi vysoká hodnota obsahu sodíku 2,71 g / 100 g výrobku představuje doporučený denní příjem sodíku 112,9 %. Nejmenší množství sodíku bylo ve vzorku 5 (0,46 g / 100 g), což bylo očekáváno vzhledem k tomu, že se jednalo o dětskou hořčici.

Tabulka č.2: Hořčice – obsah sodíku

Hořčice	Obsah sodíku v g / 100 g výrobku	GDA (%)
vzorek 1	2,71	112,9
vzorek 2	0,64	26,7
vzorek 3	1,48	61,7
vzorek 4	0,58	24,2
vzorek 5	0,46	19,2
vzorek 6	0,53	22,1

Dále bylo analyzováno 9 vzorků majonéz od šesti různých výrobců. Většina majonéz v porovnání s ostatními pochutinami obsahovala nižší množství sodíku, kromě vzorků 1 a 4, což byly dva různé druhy majonéz od společného výrobce. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Majonézy – obsah sodíku

Majonézy	Obsah sodíku v g / 100 g výrobku	GDA (%)
vzorek 1	1,02	42,5
vzorek 2	0,32	13,3
vzorek 3	0,50	20,8
vzorek 4	0,99	41,3
vzorek 5	0,48	20,0
vzorek 6	0,22	9,2
vzorek 7	0,30	12,5
vzorek 8	0,28	11,7
vzorek 9	0,53	22,1

Poslední skupinou analyzovaných pochutin byly dochucovací omáčky, které byly zastoupeny 22 vzorky od 9 různých výrobců. Obsah sodíku ve vzorcích se pohyboval v rozmezí od 0,27 g do 1,60 g sodíku na 100 g vzorku, což odpovídá rozmezí 11,3 až 66,7 % GDA.

Tabulka č. 4: Dochucovací omáčky – obsah sodíku

Dochucovací omáčky	Obsah sodíku v g / 100 g výrobku	GDA (%)
vzorek 1	0,79	32,9
vzorek 2	0,62	25,8
vzorek 3	0,85	35,4
vzorek 4	0,61	25,4
vzorek 5	0,42	17,5
vzorek 6	1,14	47,5
vzorek 7	0,97	40,4
vzorek 8	0,55	22,9
vzorek 9	0,78	32,5
vzorek 10	1,30	54,2
vzorek 11	1,11	46,3
vzorek 12	1,60	66,7
vzorek 13	0,89	37,1
vzorek 14	0,96	40,0
vzorek 15	0,56	23,3
vzorek 16	0,27	11,3
vzorek 17	0,57	23,8
vzorek 18	0,28	11,7
vzorek 19	0,28	11,7
vzorek 20	0,56	23,3
vzorek 21	0,41	17,1
vzorek 22	0,41	17,1

Pro kontrolní analýzu měření byla zvolena metoda plamenové atomizace FAAS na přístroji ContrAA 700. Při porovnání výsledků stanovených přímou potenciometrií s metodou FAAS se odchylky metod pohybovaly od 1,96 % do 17,79 %.

Závěr

Skupina kečupů byla zastoupena 7 vzorky s průměrným obsahem sodíku 1,30 g ve 100 gramech vzorku, což by pokrylo 54,2 % denního doporučeného množství GDA. Kečupy v průměru obsahovaly nejvyšší množství sodíku ve stanovaných pochutinách. U hořčic, které byly zastoupeny 6 vzorky, byly průměrné hodnoty sodíku 1,07 g ve 100 g vzorku, což odpovídá 44,6 % GDA. Průměrná hodnota obsahu sodíku v majonézách byla 0,52 g ve 100 g vzorku. Tato hodnota odpovídá 21,7 % GDA sodíku. Z analyzovaných pochutin vykazovaly majonézy nejnižší obsah sodíku. Dochucovací omáčky byly zastoupeny 22 vzorky, průměrný obsah sodíku byl 0,72 g ve 100 g vzorku, což by pokrylo 30,0 % GDA. Z hlediska výživových doporučení je zřejmé, že při dietě zaměřené na snížení příjmu sodíku v denní dávce je třeba dbát na množství těchto pochutin, případně se jim úplně vyhnout.

Literatura

Ruprich, J. et al. (2000). Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí. Subsystém 4: Zdravotní důsledky zátěže lidského organizmu cizorodými látkami z potravinových řetězců v roce 1999. Odborná zpráva za rok 1999. SZÚ.
Dostupné na webu: http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/voda/pdf/sodik.pdf
Velíšek, J., Hajšlová. J. Chemie potravin, 3. vyd., Tábor, Ossis, 2009.
World health organization. Department of Nutrition for Health and Development., Guideline: sodium intake for adults and children. Geneva, 2012. ISBN 9789241504836.
Vyhláška č. 326/2001 ze dne 30. 8. 2001, kterou se provádí § 18 písm. a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich, v platném znění.
Vyhláška č. 331/1997 ze 11. 12.1997, kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky a ochucovadla a hořčici, v platném znění.

P 20

SYSTÉM DOHLEDU A KONTROLY CELNÍ SPRÁVOU ČESKÉ REPUBLIKY A OCHRANA TRHU S POTRAVINAMI

Petra Průšová[1,3], Jaromír Seidl[2], Jaroslav Hofmann[2], Helena Čížková[1]
[1)] Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 160 00 Praha 6
[2)] Ústav fyziky a měřicí techniky, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 160 00 Praha 6
[3)] Celní správa České republiky, oddělení Právních a správních činností, Washingtonova 7, 113 54 Praha 1

Úvod

Celní správa České republiky je bezpečnostním sborem a jako orgán státní správy má nezastupitelnou úlohu v ochraně trhu potravinami v České republice. Disponuje rozsáhlými kompetencemi a uplatňovaný systém dohledu a kontroly je založen na spolupráci s dalšími státními orgány. V oblasti bezpečnosti potravin úzce spolupracuje se Státní veterinární správou a Státní zemědělskou a potravinářskou inspekcí. Již několik let zaznamenáváme stále sofistikovanější metody falšování, kontaminace, systému náhražek a nových materiálů v potravinářství. Je proto nutností aplikovat výměnu shromážděných dat, jejich analýzu a zvolit jednotný postup dozorových a kontrolních orgánů ve všech vyspělých státech ve světě. Důvodem je obrana proti nekalým, klamavým praktikám distributorů, výrobců a dalších skupin, při pohybu potravinových komodit, které představují riziko pro lidský organismus. Dovoz a tranzit potravin ze třetích zemí na území Evropské unie probíhá pod dohledem celních správ členských zemí a je omezen v případě, že se na příslušné potraviny vztahují přímo použitelné právní předpisy, které stanovují zvláštní podmínky pro dovoz, například předložení příslušných osvědčení, certifikátů a prohlášení v souladu s těmito předpisy (Průša, 2013). Druh a typ kontroly je realizován podle vyhodnocené rizikovosti konkrétních potravin a potravinových doplňků. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004 umožňuje České republice stanovit si tzv. „rizikové“ komodity ze třetích zemí, které jsou ve zvýšené míře kontrolovány při dovozu – tzv. „červený seznam“ (např. pšenice *Triticum aestivum* L var. měkká bílá, s deklarovaným původem ve Spojených státech, z důvodu detekce přítomnosti GMO) (Portál CS, 2016). Dalším důležitým nástrojem v oblasti bezpečnosti potravin u dováženého zboží je systém, známý pod zkratkou RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). Jedná se o systém rychlého varování, tzv. přenos informací mezi jednotlivými státy, které jsou do systému zapojeny. Získané informace o nebezpečí jsou zasílány z národního kontaktního místa v dané zemi Evropské komisí (skupině pro bezpečnost potravin). Některá zjištění (jakostní nedostatky) mající vliv na bezpečnost potravin (RASFF, 2015):

- *arzen* v pomocné látce (USA)
- *nitrofuran* SEM v krevetách (Bangladéš)
- *chloramfenicol* ve vepřových střívcích (Čína)
- *aflatoxiny* B1 = 9.13 µg/kg v mletém muškátovém oříšku (Indonésie)
- nepovolené použití barviva *methyl yellow* v Chilli Tofu (Tchaj-wan)

Cílem celní správy jako orgánu státního dozoru, je zabránění importu takových potravin nebo zemědělských komodit, který představuje možné zdravotní riziko pro spotřebitele.

Problematika dovozu a analýza rizik

Dovoz potravin do České republiky je realizován v průběhu procesu, který nazýváme celní řízení. Dovážené zboží je spolu s dokumentací předloženo celnímu úřadu ke kontrole spolu s veškerou dokumentací ke zboží v zásilce tzv. průvodní doklady (např. příslušná osvědčení o původu zboží, certifikáty, obchodní doklady, přepravní doklady a další).

Celní správa ve spolupráci se Státní zemědělskou a potravinářskou inspekcí (SZPI) každoročně vyhodnotí několik desítek rizikových zásilek mířících na náš trh. Nejedná se tedy jen o potraviny uvedené v některém seznamu komodit, u nichž dovoz je zpřísněn evropskými právními předpisy (např. rýže ze Spojených států, slunečnicový olej z Ukrajiny, bylinky z Čínské lidové republiky, listy pepře betelového z Indie a gumové cukrovinky z Čínské lidové republiky). Pro systém dohledu

a kontrol, nejen u zásilek v rámci celního řízení, byl vytvořen systém vyhodnocování potenciálních rizik, které vyhodnocuje a následně zpracovává (Svoboda, 2012). Jedná se o tzv. elektronickou rizikovou analýzu („ERIAN“). Ročně může být aktivováno několik tisíc rizikových profilů. Čerpání zdrojů pro analýzu rizik:

- vlastní zdroje (např. poznatky z kontrol);
- externí zdroje (kontrolní orgány ČR, Policie ČR, Finanční správa ČR a další);
- mezinárodní (systém RASFF, RAPEX a další).

Systém vyhodnocuje zdroje dat a údaje z deklarovaných údajů při celním řízení a je proto důležité provádět kontrolu dovozcem uváděných skutečností. Častým prohřeškem dovozců je vědomá záměna země původu zboží při dovozech ze třetích zemí, ale také úmyslné uvádění chybného sazebního zařazení zboží do podpoložky celního sazebníku kombinované nomenklatury (mezinárodní kódy pro označování produktů a výrobků), ať z důvodu finanční úspory (nižší nebo nulová sazba cla) nebo obcházení tzv. zákazů a omezení. K zamezení takových podvodů jsou průvodní doklady ke zboží často odeslány na následnou verifikaci tj. ověření pravosti a pravdivosti certifikátu o původu zboží. Tento nástroj je velice účinný a jen v roce 2013 bylo takto verifikováno 1 034 důkazů původu.

Z vybraného počtu 1113 zásilek v roce 2013 nahlášených SZPI nebylo 32 propuštěno do celního režimu volného oběhu (zejména se jednalo o doplňky stravy z Číny a Indie, které obsahují látky zakázané při výrobě potravin v ČR). V oblasti bezpečnosti potravin v roce 2014 celní orgány nahlásily 1 134 zásilek všech sledovaných komodit. Z více jak 867 nahlášených zásilek byl u 17 zásilek vysloven nesouhlas s propuštěním do volného oběhu.

Velkým problémem se stávají i padělané nekvalitní potraviny a nápoje, ale také potravinové doplňky. Začátkem letošního roku (2016) se celní správa opět zapojila do jednotné celní operace OPSON V, která byla vyhlášena z důvodu výrazného zvýšení počtu zajištěného zboží v oblasti padělání a zdravotní závadnosti potravin a potravinových doplňků v předcházejících letech (viz tab. 1). Do mezinárodní operace se zapojilo 57 zemí a bylo zajištěno několik tisíc tun potravin a několik tisíců litrů nápojů.

Tab. 1: Přehled některých záchytů v rámci operace OPSON V. za období 2015 – 2016

Země kontroly	Zajištěné množství	Druh potraviny	Zjištění a nesrovnalost
Itálie	85 tun	Balené olivy	Obarveno síranem měďnatým
Súdán	9 tun	cukr	Kontaminováno hnojivem
Maďarsko	2 tuny	Kachní maso	Označeno jako husí játra
Řecko	7.400 lahví	alkohol	Padělaný alkohol
Velká Británie	10.000 litrů	alkohol, víno	Falešné a padělané
Thajsko	34 tun	Hovězí maso	Zdravotně závadné
Jižní Korea	prodej on-line	Přírodní produkty	Obsah nebezpečné l.
Austrálie	450 kg	med	Padělaný, namíchaný
Austrálie	prodej on-line	arašídy	Přebalení po expiraci

Odběr vzorků celní správou

Celní správa v průběhu celního řízení odebírá a analyzuje vzorky z kontrolovaného zboží (viz. tab. 2) přehled počtu odebraných vzorků za vybrané období). Vzorky zboží v místě kontroly jsou následné odeslány na specializovaný útvar Celní správy České republiky a tou je Celně technická laboratoř (dále jen „CTL“). Poměr odebraných vzorků k realizované operaci je cca. dovoz/vývoz 80% /20 %, u tranzitu se odběr vzorků nerealizuje (Vlastní, 2016).

Tab. 2: Celkový počet odebraných vzorků ze strany Celní správy, které byly odeslány k dalšímu zkoumání do CTL za vybrané období 2011 až 2015.

Rok odběru	2012	2013	2014	2015
Počet vzorků odeslaných do CTL	9925	6554	8502	7890

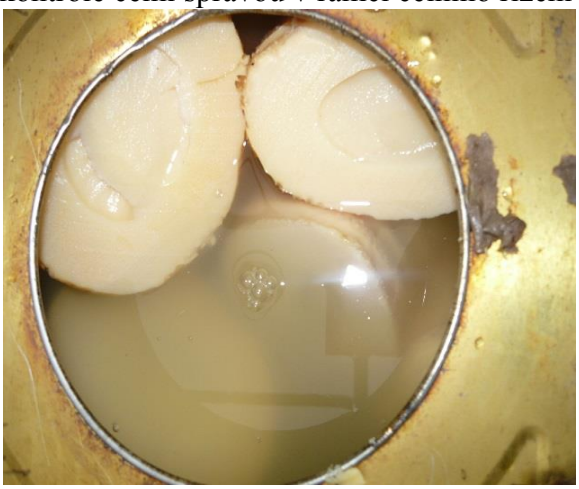
Celní správa se snaží kromě klasických analytických metod, využívat také mobilní detekční metody, které byly ve vyšším počtu úspěšně využívány např. při metanolových otravách z alkoholických nápojů v roce 2012. Vývoji metodám poskytující prvotní náhled o kontrolovaném produktu je věnována velká pozornost. Perspektivní možností pro kontrolní orgány představuje ruční analyzátor Ramanovský / Ramanův spektrometr s laserem 1064 nm, který poskytuje okamžitý náhled a ztotožnění vzorku nebo používání mobilních laboratoří, které jsou s úspěchem používány v Maďarsku. Ztotožňování vzorků je důležitý nástroj nejen v kontrolách v terénu, využití by se nabízelo i v přímém výkonu na celních odděleních, protože dovozci často uvádějí nesprávné údaje o dováženém zboží ať z neznalosti nebo účelově (deklarování minerální vody místo kokosové vody, zkreslování obsahu některých složek mající vliv na celní sazbu, např. obsah celkového cukru 17 % hm., analýzou v laboratoři bylo následně zjištěno, že celkový obsah cukrů je až 72,40 % hm., popřípadě deklarování aloe vera šťávy, místo oslazené vody apod.).

Předběžné výsledky by mohla v budoucnu nabídnout například i metoda použití měření impedanční spektroskopie, která umožňuje získat výsledek o vzorku v reálném čase, například analýza ovocných šťáv s rozlišením přídavku vody (Seidlová et al., 2015).

Příklady realizovaných případů a výsledky činnosti

V roce 2014 a 2015 bylo při celním řízení zkontrolováno několik zásilek s potravinovým zbožím odeslaných z Číny a Vietnamu. První zásilka byla odeslána z Číny. Po provedené dokladové kontrole ke zboží, bylo přistoupeno k tzv. úplné vnitřní kontrole. V kontejneru bylo zboží „*bambusové výhonky*“ přepravováno k plechových obalech. Celní správa kontaktovala pracovníky SZPI s žádostí o součinnost. Přestože doklady odpovídaly charakteru zboží (byl vyžadován certifikát zdravotní nezávadnosti příslušných orgánů dozoru v zemi odeslání), bylo zřejmé, že potraviny nejsou vhodné k lidské spotřebě. Vykazovaly masivní zaplesnivění (viz. obrázek 1a) kolem víček plechovek, které zároveň byly poškozeny rzí a také již docházelo k množení skladištních škůdců v larválním stádiu (viz obrázek 1b). Po provedené celní kontrole a také na základě obdrženého stanoviska ze strany SZPI bylo vydáno rozhodnutí o zákazu propuštění nebezpečných bambusových výhonků na území České republiky.

Obr. 1a a 1b: Fotografie zásilky deklarované jako Bambusové výhonky, které byly pořízené při kontrole celní správou v rámci celního řízení



V roce 2015 byla zachycena další zásilka s potravinami s hmotností 3,6 tun, tentokrát z Vietnamu. Z předložených dokladů se mělo jednat majoritně o semena fazolí s minoritním podílem rýže. Deklarovaná hmotnost rýže byla 990 kg. Při hmotnosti 1 tuna a více je vyžadován doklad vydaný Státním zemědělským intervenčním fondem (dovozní licence). Celní úřad přistoupil ke kontrole zásilky. Místo fazolí zásilka obsahovala „konzervovanou zeleninu“. Rozpor byl také v

množství deklarované rýže. Zásilka vykazovala zjevnou zdravotní závadnost - na obalech byla rozšířena plíseň a znečištění (viz. Obr. 2a a 2b). Po vyhodnocení možných rizik pro spotřebitele po uvedení zboží do volného oběhu bylo rozhodnuto o zničení celé zásilky (Portál Komise, 2015).

Obr. 2a a 2b: Fotografie (konzervované zeleniny) nakládané cibulky, přepravované v plastových kanystrech v zásilce deklarované jako „fazole a rýže“

Z výsledků kontrolní činnosti celní správy se dá říct, že se často opakují zásilky určené pro asijské restaurace v České republice. Často jsou dováženy různá semena a oříšky, rýžové nudle, nebo zmíněná konzervovaná zelenina, dále koření, příchutě a dochucovadla do polévek, rýže, ale také hotové polotovary (polévky, těstoviny), v některých případech mouka, ocet a další komodity viz. obr. 3a až 3b fotografie z kontrolované zásilky určené pro asijské restaurace.

Obr. 3a a 3b: Fotografie (sušené plody a papričky) pořízené při úplné vnitřní kontrole při celním řízení

Jak bylo zmíněno v úvodu, celní správa spolupracuje také se Státní veterinární správou. Jen v loňském roce bylo v 11 hraničních krajích provedeno 45 kontrol kontroly zásilky, které obsahovaly živočišné produkty (maso, vejce a med). Do české republiky nebylo vpuštěno zboží s celkovou hmotností více jak 22 tun, nejčastěji se jednalo např. o mleté výsekové maso. Ze strany celní správy a veterinářů bylo na pozemních komunikacích zkontrolováno více jak tisíc dopravních souprav (Celní správa, 2016). Jeden případ za všechny, v měsíci dubna bylo zkontrolováno v Praze 4 několik nákladních vozidel polské imatrikulace. V jednom případě v ložném prostoru vezlo přes půl tuny čerstvého mletého kuřecího masa, v dalším případě již 1.685 kg kuřecího masa a následně 7.165 kg kuřecího masa a drobů. K přepravovanému zboží chyběli průvodní doklady a příslušná přepravní povolení. Po předběžné kontrole, byl případ předán k šetření Státní veterinární správě, která zahájila úkony dalšího šetření a zboží tak bylo veterináři zajištěno.

Obr. 4a a 4b: Fotografie (čerstvé kuřecí maso) pořízené při vnitrostátní kontrole celní správou

Závěr

Celní správa České republiky plní nezastupitelnou roli v oblasti bezpečnosti potravin vstupujících na trh v České republice. Zejména z důvodu zvyšujícího se počtu nekvalitního, kontaminovaného a falšovaného a zboží, kdy celní orgány zajistily více než milion kusů nebezpečného zboží, je nutné i nadále provádět zvýšený dohled a kontrolu nad zemědělskými a potravinářskými komoditami, které jsou dováženy na trh v České republice. Veřejností je vnímán pokračující trend výskytu padělaných a zdraví škodlivých výrobků. Zajímavé bude sledovat vývoj trhu s výrobky ekologického zemědělství, které budou předmětem dalších šetření.

Literatura

Celní správa ČR, Tisková zpráva Celního úřadu pro hl. město Prahu ze dne 20.04.2015, citace dne 22.01.2016, dostupné na: https://www.celnisprava.cz/cz/celni-urad-pro-hlavni-mesto-prahu/tiskove-zpravy/2015/Stranky/prazsti-celnici-ve-spolupraci-se-szpi-nepropustili-na-tuzemsky-trh-nebezpecne-bambusove-vyhonky.aspx

Portál Celní správy ČR, odbor 21, citace 22.01.2015, dostupné na: http://portal.cs.mfcr.cz/grc/odbor21/odd215/predpisy/Bezpenost%20potravin/Červený%20seznam/aktuální%20komodity%20zahrnuté%20na%20tzv.%20červený%20seznam.pdf

Informační centrum Ministerstva zemědělství ČR, citace 30.1.2015, dostupné na: http://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/hlaseni-v-systemu-rasff.aspx

Portál Celní správy ČR, odbor 21, statistika CTL - počet vzorků za rok 2011, 2012, 2013 a 2014, citace 22.1.2015, dostupné na: http://tis.cs.mfcr.cz/eev.aspx?navigParam=acStatistiky

Průša P.: Spolupráce Celní správy České republiky a Státní zemědělské a potravinářské inspekce, 2013, Diplomová práce, Česká zemědělská univerzita v Praze, p. 23

Seidlová R., Ďad'o S., Seidl J., Průšová P., Poživil J., Hofmann, J., Hrnčiřík P.: Electrode-less Electrolyte Impedance Measurement, Indian Chemical Engineer, 2014: p. 1-17.

Svoboda K.: Analýza aktivit celní správy z hlediska jejich fiskálních cílů, Diplomová práce, Masarykova univerzita, 2012, p. 16

Portál Celní správy České republiky, Tisková zpráva o výsledcích společné kontroly celní a Státní veterinární správy ze dne 22. 01. 2016

Portál Interpol: Tisková zpráva o výsledcích operace Opsov V, ze dne 30. 03. 2016, dostupné na: http://www.interpol.com/news%media
Portál Evroské komise, portal RASFF, citace dne 08.05.2016, dostupné na: https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=searchResultList

P 21

VYTVORENIE VHODNÉHO GENETICKÉHO MARKERA PRE AUTENTIFIKÁCIU PRÍDAVKU JAČMEŇA V KÁVE ARABICA

Šnirc M., Fekete T., Bobková A.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU Nitra, Tr. A. Hlinku, 949 01 Nitra

Úvod

Termínom „káva“ rozumieme upravené semená plodov rôznych kultivovaných stále zelených tropických až subtropických stromov alebo krov kávovníkov. Kávovník, rod *Coffea L.* z čeľade *Rubiaceae* (morenovité) zahrnuje veľké množstvo druhov. Hospodársky dôležité sú iba niektoré z nich a ich variety, ktorých semená sa líšia technologickými, chemickými a senzorickými vlastnosťami. Plody kávovníka sú kôstkovice farby bielej, žltej, červenej až fialovej pripomínajúce čerešne, a preto sa niekedy nazývajú kávové čerešne. Plod obsahuje dve ploché semená obalené voľným osemením zvaným strieborná blanka. Niekedy sa vyvinie v semenníku iba jedno celé zaoblené semeno, ktoré sa nazýva zrno peľové. Kávovníkové kry sa pestujú v typických monokultúrach, udržujú sa do výšky asi 3 m. Zber trvá viac týždňov až mesiacov. Zrelé plody, ktoré sa podobajú čerešniam, sa zberajú buď po jednom ručne, alebo sa striasajú (Kadlec, 2002).

Autentifikácia potravinárskych výrobkov má dnešnej dobe dôležité postavenie. Dôvodom vývoja metód, ktoré sú zamerané na preukazovanie autentickosti potravinárskych výrobkov sú opakovane sa vyskytujúce prípady falšovania potravín. Výrobky sa falšujú mnohými spôsobmi, najčastejšie sa jedná o zámenu cennejších zložiek lacnejšími, nedodržiavanie deklarovaného množstva výrobku alebo neuvedenie krajiny pôvodu daného výrobku. Využitie DNA metód pri odhaľovaní falšovania má oproti metódam využivajúcim na identifikáciu bielkoviny množstvo výhod, medzi ne patrí napríklad vyššia termostabilita DNA oproti bielkovinám a taktiež je DNA druhovo variabilnejšia. Metódy využívajúce pri identifikácii DNA sú založené na princípe PCR (Šnirc et al., 2015).

Cieľ práce

Cieľom našej práce bolo vytvorenie a *in silico* verifikácia vhodného genetického markera určeného na odhaľovanie prídavku jačmeňa siateho (*Hordeum vulgare*) v káve arabica (*Coffea Arabica*).

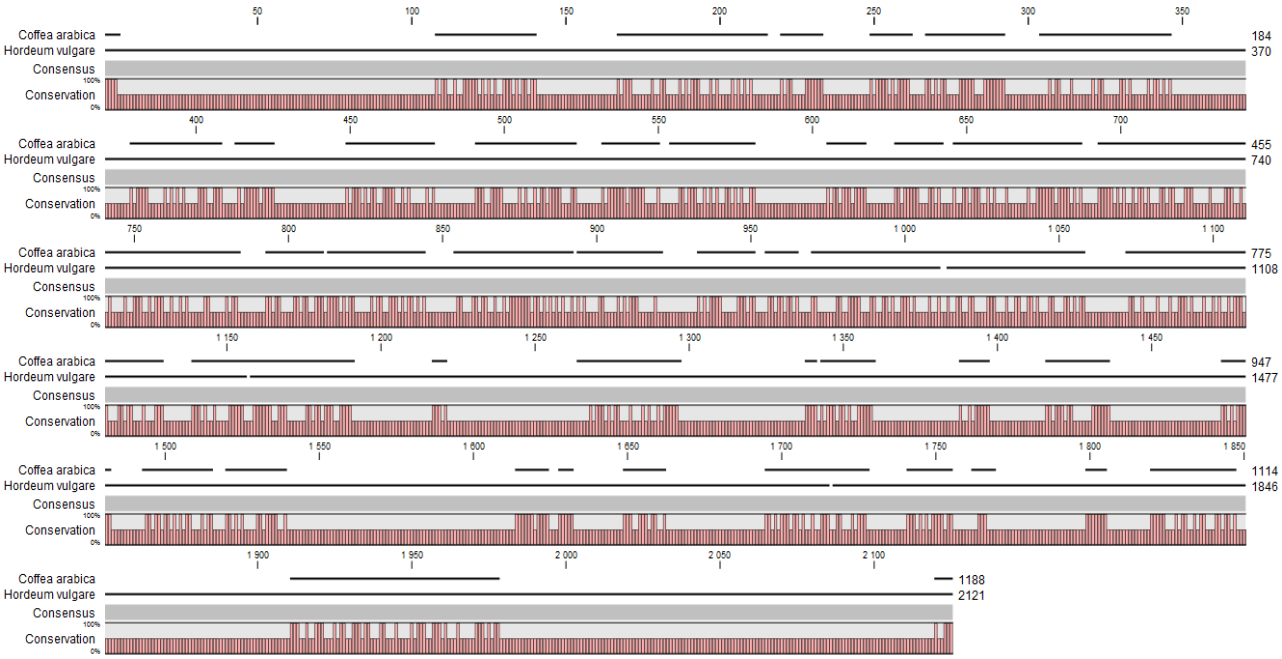
Materiál a metódy

Pri návrhu vhodných primerov sme pracovali s informáciami získanými z génovej banky databázy NCBI. Jednalo sa o referenčnú génovú sekvenciu chloroplastu jačmeňa siateho (NC_008590.1) a genómu Coffea arabica (taxid:13443). Jednotlivé sekvencie sme analyzovali pomocou programu CLC Sequence viewer, následne sme jednotlivé sekvencie použili na návrh primerov použitím programu PrimerQuest. Na základe získaných výsledkov sme navrhli sady oligonukleotidových primerov, ktoré ohraničujú špecifické úseky DNA. Jednotlivé sety navrhnutých primerov sme testovali pomocou programu PrimerBlast a vyhodnotili sme ich špecifickosť pre dôkaz prídavku jačmeňa siateho (*Hordeum vulgare*) v káve arabica (*Coffea Arabica*).

Výsledky a diskusia

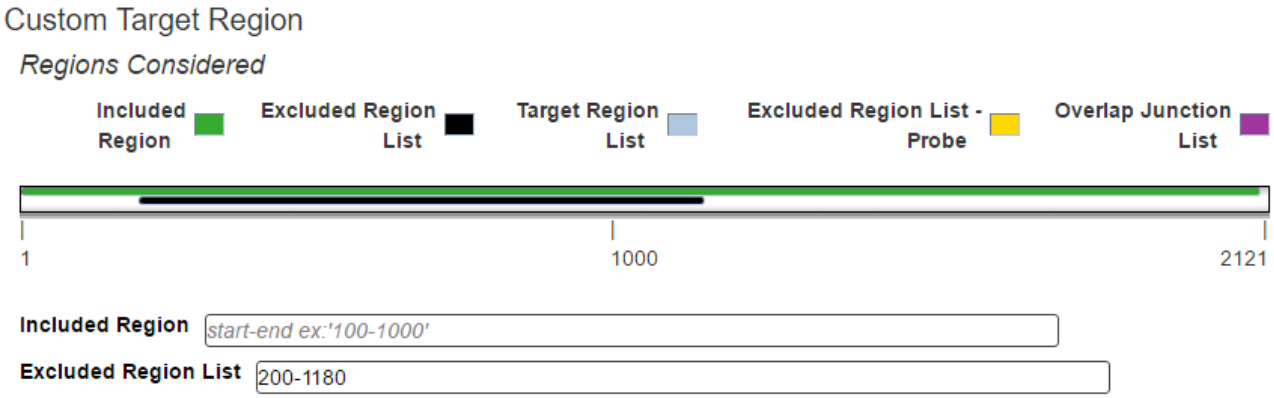
V génovej banke sme vyhľadali sekvenciu chloroplastu kávy arabica (*Coffea arabica*) a jačmeňa siateho (*Hordeum vulgare*). Jednotlivé druhy sme vyhľadali prostredníctvom latinského názvu a ich konkrétne génové sekvencie sme zobrazili vo formáte FASTA. Takto získané génové sekvencie sme vložili do programu CLC Sequence Viewer, kde sme génové sekvencie chloroplastov analyzovali.

Obrázok 1: Grafické porovnanie podobnosti sekvencie chloroplastu jačmeňa siateho (*Hordeum vulgare*) a kávy arabica (*Coffea Arabica*).



Na obrázku 1 je znázornené grafické porovnanie genetickej sekvencie chloroplastu jačmeňa siateho a kávy arabica, ktoré sme získali prostredníctvom programu CLC sequence viewer vložením génových sekvencií vo formáte FASTA. Gén chloroplastu kávy arabica je zložený z 1188 oligonukleotidov, gén chloroplastu jačmeňa siateho je zložený z 2121 oligonukleotidov. V spodnom poli vidíme grafické znázornenie variability týchto génových sekvencií. Z obrázku vyplýva, že variabilita je na niektorých miestach génovej sekvencie nízka. Na základe porovnania sme vystrihli génové sekvencie, ktoré sú konzervatívne pre oba druhy a preto sa nemôžu používať pre návrh druhovo špecifických primerov. Zvyšné sekvencie, v ktorých sú ich oblasti variabilné sme použili pri návrhu primerov pre identifikáciu prídavku jačmeňa siateho do kávy arabica.

Obrázok 2: Regióny sekvencie chloroplastu vyňaté z návrhu primerov



Údaje získané z porovnania génových sekvencií sme použili pre návrh vhodných špecifických primerov a sondy pomocou programu PrimerQuest. Našou požiadavkou bolo, aby naše primery mali orientáciu 5´→3´. Do poľa „Excluded Region List“ sme zadali konzervatívne génovú oblasť (t.j. 200-1180), ktorú sme nezohľadňovali pri návrhu primerov. Ostatné údaje potrebné pre návrh detekčnej sady sme nechali v pôvodnom nastavení. V tabuľkách 1, 2 a 3 sú navrhnuté detekčné sady a vlastnosti jednotlivých navrhnutých primerov, ktoré sa týkajú hlavne ich presnej polohy v danej sekvencii, veľkosti amplikónu, teploty topenia a obsahu CG báz.

Tabuľka 1: Navrhnutá 1. detekčná sada primerov pre detekciu prídavku jačmeňa siateho v káve arabica.

Sekvencia (5 - 3)	Dĺžka (bp)	Začiatok (bp)	Koniec (bp)	Obsah CG (%)	Dĺžka amplikónu	Tm (°C)
F: **GAGAAGCCGTATGAAGCTAAGG**	22	1504	1526	50	358	62
R: **GTAACAGTTCTCTACTTGGGCG**	22	1840	1862	50		62

Tabuľka 2: Navrhnutá 2. detekčná sada primerov pre detekciu prídavku jačmeňa siateho v káve arabica.

Sekvencia (5 - 3)	Dĺžka (bp)	Začiatok (bp)	Koniec (bp)	Obsah CG (%)	Dĺžka amplikónu	Tm (°C)
F**: TGAAATAGCGGTGGGAACTG**	20	1541	1561	50	205	62
R: **GATTTACCAGAAGCAGAGGAAGA**	23	1723	1746	43,5		62

Tabuľka 3: Navrhnutá 3. detekčná sada primerov pre detekciu prídavku jačmeňa siateho v káve arabica.

Sekvencia (5 - 3)	Dĺžka (bp)	Začiatok (bp)	Koniec (bp)	Obsah CG (%)	Dĺžka amplikónu	Tm (°C)
F: **ACCAGAAGCAGAGGAAGAATTAG**	23	1728	1751	23	354	62
R: **TTTACCTATTTCCCTGGGCAA**	21	2061	2082	42,9		62

In silico sme overili vhodnosť navrhnutých primerov pre detekciu prídavku jačmeňa siateho do kávy arabica pomocou programu Primer-BLAST. Kontrolovali sme druhovú špecifickosť navrhnutých primerov porovnaním s genómom kávy arabica. Sledovali sme, či jednotlivé primery nenasadali aj na genóm kávy arabica, respektíve či sú špecifické len pre genóm jačmeňa siateho. Po vložení primerov z prvej sady a nastavení všetkých požadovaných kritérií nám program vyhodnotil, že sa nami navrhnutá prvá sada primerov nehybridizuje so žiadnou sekvenciou genómu kávy arabica. Preto je možné použiť túto detekčnú sadu na identifikáciu prídavku jačmeňa siateho do kávy arabica za účelom autentifikácie pomocou End point PCR metódy. Rovnako ani ďalšie dve navrhnuté sady primerov nehybridizovali so žiadnou sekvenciou génomu kávy arabica.

Záver

Návrh špecifických primerov podľa génovej sekvencie chloroplastu jačmeňa siateho potvrdil, že podľa génovej oblasti chloroplastu je možné navrhnúť špecifické primery pre detekciu prídavku jačmeňa siateho v káve arabica. Génová sekvencia chloroplastu je postačujúca pre návrh troch detekčných sád pre jačmeň siaty, ktoré sú druhovo špecifické pre jačmeň siaty a nedochádzalo pri nej k nešpecifickému nasadaniu primerov na genóm kávy arabica.

Literatúra

KADLEC, P. 2002. Technologie potravin II. 1. vyd. Praha: VŠCHT, ISBN 978-80-7080-510-7.

Šnirc, M., Fekete, T., Belej, Ľ. 2015. Vytvorenie vhodného genetického markera pre autentifikáciu kurčacieho mäsa v mäsových výrobkoch, In mladí vedci- bezpečnosť potravinového reťazca, pp: 248-250, ISBN: 978-80-89738-06-9

P 22

AUTENTIFIKÁCIA BRYNDZE END-POINT PCR METÓDOU

Fekete T. (1), Šnirc M. (1), Bobko M. (2)
(1) Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FPB, SPU v Nitre
(2) Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, FPB, SPU v Nitre

Falšovanie potravín živočíšneho pôvodu je významnou problematikou, ktorá súvisí so zdravotnými, náboženskými a ekonomickým aspektmi. Spotrebiteľ by mal byť chránený pred dôsledkami falšovania potravín prostredníctvom rýchlej, presnej a špecifickej identifikácie deklarovaných druhov živočíšnych surovín. Na tento účel existuje mnoho histologických, mikroskopických, organoleptických, chemických, elektroforetických a chromatografických metód. Vzhľadom na jedinečnosť genetického kódu sa do popredia dostávajú metódy na princípe PCR, ktoré poskytujú najreprodukovateľnejšie výsledky. Dôvodom je predovšetkým termostabilita DNA, čo umožňuje autentifikáciu tepelne opracovaných (pasterizovaných alebo sterilizovaných) výrobkov. Ďalšou výhodou je konzervovaná štruktúra DNA vo všetkých tkanivách organizmu, vďaka čomu mlieko a mäso daného druhu má rovnakú DNA. Najvýznamnejšou výhodou je rozlišovacia sila medzi príbuznými druhmi, a to vďaka nukleotidom, ktoré v DNA na určitých miestach vytvárajú jedinečný algoritmus. Pri vytváraní autentifikačných markerov je výzvou práve identifikácia obdobných algoritmov, ktoré sú použité pre návrh druhovo špecifických primerov. Práca bola zameraná na vytvorenie a overenie genetického markera pre autentifikáciu bryndze. V práci sme využili program CLC Sequence Wiewer (CLC Bio) pre identifikáciu polymorfných sekvencií cytochrómu b pre ovcu, kozu a hovädzí dobytok. Polymorfné sekvencie boli vyselektované pre návrh primerov v programe PrimerQuest Tool (IDT). Navrhnuté sady primerov boli in silico testované pre stabilitu (OligoEvaluator, Sigma-Aldrich) a druhovú špecifickosť (NCBI Primer Blast), prostredníctvom skenovania voči genómu kozy a hovädzieho dobytka. Validované sady s najlepším skóre boli odporučené pre verifikáciu v praxi.

P 23

PRŮKAZ TUKU V MASNÝCH VÝROBCÍCH OBRAZOVOU ANALÝZOU

Pospiech M.[1], Gavlasová L.[1], Saláková A.[2], Tremlova B.[1], Kameník J.[2], Javůrková Z.[1]
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1946/1, 612 42 Brno
[1)] Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, VFU Brno;
[2)] Ústav hygieny a technologie masa, VFU Brno

Souhrn

Doporučenou metodou pro stanovení tuku v masných výrobcích je extrakční metoda s předešlou hydrolýzou vzorku, která vychází z české technické normy. Tato metoda je však zdlouhavá a s ohledem na použité chemikálie také nákladná. Cílem práce bylo proto ověřit vhodnost obrazové analýzy jako nedestruktivní metody pro stanovení obsahu tuku v masných výrobcích. Metoda byla ověřena na masném výrobku Špekáček. Z výsledků práce je zřejmé, že pro tento typ výrobku nemůže být obrazová analýza použita jako alternativa metody chemické. Obrazovou analýzu lze ale doporučit jako metodu vhodnou na popis tukových zrn v nákroji jako průvodní znak kvality zpracování tukové vložky.
Klíčová slova: Špekáček, Soxletova extrakce, tuková zrna

Úvod

Doporučenou metodou pro stanovení tuku v masných výrobcích je extrakce dle Soxleta, extrakční metoda s předešlou hydrolýzou vzorku. Metoda vychází z české technické normy ČSN ISO 1444 576020. Podle této normy se tuk stanovuje 4 hodinovou extrakcí vysušeného vzorku extrakčními rozpouštědly (n – hexan, extrakční benzín), s předcházejícím krokem hydrolýzy kyselinou chlorovodíkovou. Výsledek se vyjadřuje v hmotnostních procentech a zaokrouhluje se na jedno desetinné místo. Délka extrakce a hydrolýzy se může lišit podle použitých zařízení. V každém případě se však jedná o metodu, která je náročná na čas a použité chemikálie. S ohledem na novou povinnost uvádět výživová tvrzení u potravin (Nařízení, 2011) lze předpokládat zájem ze strany výrobců potravin o metodu stanovení tuku, kterou by bylo možné použít přímo v provozu, bez zbytečného prodlení a bez nutnosti odebírat vzorky. Tyto podmínky splňují metody, které můžeme označit za metody nedestruktivní. Jednou z prvních aplikací nedestruktivních metod je metoda NIR analýzy. Pro maso byla v roce 1968 použita v práci Ben-Gera a Norris (Ben-Gera, 1968). NIR technika zde byla použita pro predikci vlhkostí a tuku v homogenizovaném mase. V dalších desetiletích následovaly četné práce o použití techniky NIR pro stanovení základních složek masa a masných výrobků. Z počátku byla většina prací zaměřena na potenciál techniky pro stanovení hlavních složek (bílkoviny, tuk, vlhkost) a ukazatelů kvality jednotlivých druhů masa (Procházková a Králová, 2013). Další nedestruktivní metodou jsou metody ultrasonografie. Bahelka et al. (2006) se ve své studii věnovali možnostmi odhadu obsahu tuku v *musculus longissimus dorsi* u prasat pomocí ultrazvuku a počítačové analýzy obrazu. Jako materiál posloužila jatečná těla prasat, sonografovaná v oblasti pravého žebra před jatečnou porážkou. Další intenzivně se rozvíjející nedestruktivní metodou je Obrazová analýza. Posuzováním viditelného tuku obrazovou analýzou z plochy řezů u suchého salámu se věnoval Girolami et al. (2014). Mezi další uvažované a studií ověřené nedestruktivní metody detekce tuku, patří metoda založena na absorpci rentgenových paprsků (Akoh and Min, 2002), nukleární magnetická rezonance (Sørland et al., 2004) či impedanční spektroskopie (Altmann and Pliquett, 2005).

Materiál a metodika

Analýzy byly provedeny na mělněných masných výrobcích typu Špekáček. Vzorky byly od sedmi různých výrobců. Od každého výrobce byly hodnoceny vždy tři šarže. Vyšetření pro chemickou analýzu probíhalo v triplikátu, pro obrazovou analýzu bylo analyzováno 6 různých nákrojů. Chemická analýza byla provedena z homogenizovaných nákrojů, po zhotovení makrosnímků, které byly použity pro obrazovou analýzu.

Chemická analýza probíhala podle ČSN ISO 1444 576020. K vlastní extrakci tuku ze vzorku byl použit přístroj DET-GRAS, extraktor tuků, 6 – ti místný. (O.K. SERVIS BioPro s.r.o., CZE) Extrakce probíhala celkem 75 minut, z toho 15 minut činila fáze vařící, 45 minut fáze proplachovací a 15 minut fáze na obnovení rozpouštědla. Jako rozpouštědlo byl použit n- hexan, extrahující tuk při teplotách 140 – 150 °C.

Obrazová analýza probíhala z makrosnímků nákrojů. Snímky byly pořízeny za stejné výchozí podmínky pro všechny nákroje. Vzorky byly snímány po předchlazení na teplotu 8°C, a lehkém osušení filtračním papírem na omezení odlesků v temné komoře. Jako zdroj světla byly lampy EASY LIGHT s intenzitou osvětlení 7290 lux. Snímky byly opatřeny fotoaparátem EOS 600D (Canon, JPN). Parametry snímání byly zvoleny: režim manuál, clona F8, velikost snímků L, ISO 100, expoziční čas 1/100, zoom 55 mm, datový formát JPEG, funkce White balance zapnuta, blesk vypnut. Nákroje byly snímány na sytě modrém papíru o velikosti A4, s cílem dosažení vysokého kontrastu mezi vzorkem a pozadím. Zpracováno obrazu probíhalo pomocí SW NIS-elements BR (NIS-elements, CZE). Parametry pro prahování byly zvoleny v systému HSI. Postprocesové zpracování zahrnovalo dvojité vyhlazení, separaci a zaplnění děr.

Výsledky a diskuze

Výsledky průměrného množství tuku pro jednotlivé výrobce jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka č.1: Průměrné množství tuku u analyzovaných výrobců

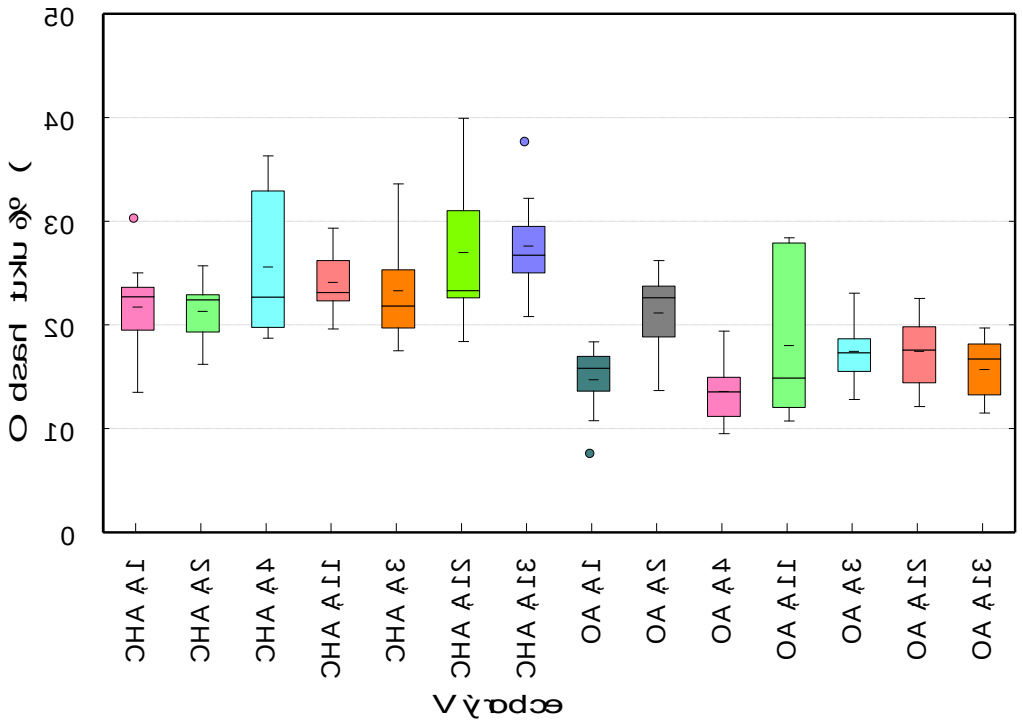
Špekáček	Chemická analýza [%]	Obrazová analýza [%]
A1	21,9±4,5	14,9±3,4
A2	21,5±2,7	21,3±4,1
A3	23,5±5,2	17,6±3,2
A4	25,8±5,2	13,8±3,4
A11	24,3±2,8	18,2±7,3
A12	27,2±7,3	17,6±3,4
A13	27,8±4,9	15,9±2,8
Průměr pro metodu	24,6	17,0

Chemickou analýzou stanovený obsah tuku ve špekáčcích nepřesáhl ani v jednom případě legislativně povolený limit 45 % (Vyhláška, 2001). Dle uvedené vyhlášky se za obsah tuku považuje celkový obsah tuku stanovený metodami založenými na principu hydrolýzy. Alternativou pro extrakční metody s hydrolýzou jsou metody bez hydrolýzy, u kterých je zkrácen celý proces zpracování vzorků a s ohledem na nižší spotřebu chemikálií dochází také k šetření nákladů. Vhodnost extrakčních metod bez hydrolýzy potvrdili víceré studie (Saláková aj., 2013; Pavlík aj., 2013) u obou autorů byly vzorky před samotnou extrakcí sušený tří hodiny při teplotě 135 ± 2 °C. Průměrný obsah tuku v zmíněných studiích byl 31,6 % u špekáčků. V porovnání s výsledky uvedenými v tabulce č. 1 průměrný obsah tuku, byl stanoven na 24,6 % v případě chemické analýzy, za použití obrazové analýzy pouze 17 %. Také studie Pérez-Palacios et al. (2008) potvrzuje, že za nejvhodnější metodu pro masné výrobky s vyšším obsahem tuku je považována Soxhletova metoda bez předchozí kyselé hydrolýzy.

Srovnáním obsahu tuku s legislativními požadavky se zabýval také spotřebitelský časopis dTest, (Hrouda aj., 2014), testující vzorky špekáčku. Výsledky testu porovnali s požadavky současné legislativy i s nároky kladenými na špekáčky v již zrušených československých státních normách. Státní norma z roku 1977 povolovala nejvýše 42 procent tuku a norma z roku 1961 (ČSN 57 7101) jen 33 procent. Testující došli k závěru, že liteře nynější legislativy vyhověly všechny testované špekáčky. Státní normu na špekáčky z roku 1977 by však splnily jen některé z nich a normu z roku 1961 žádný. V případě našeho měření by testované špekáčky splňovaly jak

požadavky současné legislativy, tak normy z roku 1997, pouze normám z roku 1961 by některé nevyhověly.

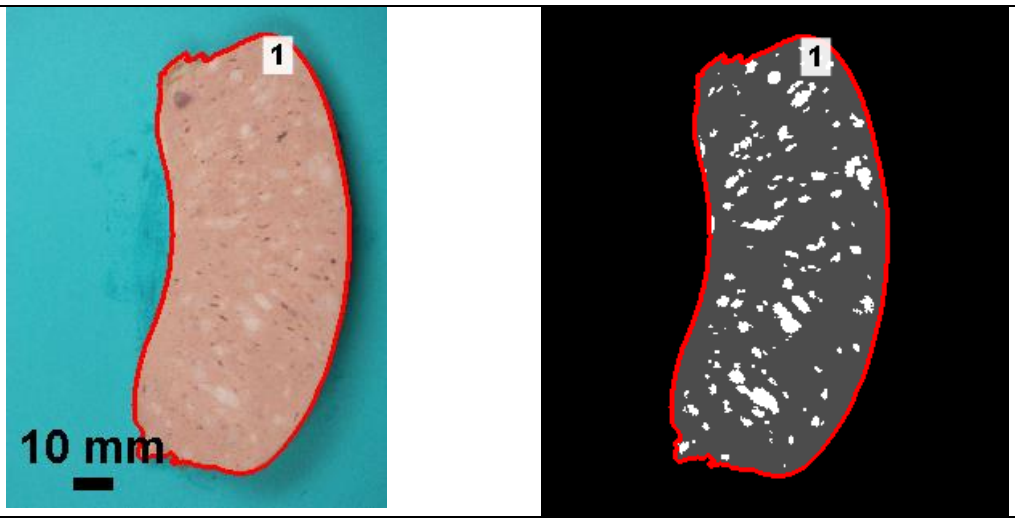
Využití obrazové analýzy pro hodnocení množství tuku v mase ověřila řada studií. Studie Dasiewicz and Mierzwińska (2006) potvrzuje, že obrazová analýza je pro účely analýzy tuku v mase vhodnou metodou (r = 0,72 - 0,95). Vhodnost obrazové analýzy pro stanovení tuku u salámů byla ověřena ve studii Girolami et al. (2014). Kde autoři vyhodnocovali poměru tuku výrobku na základě hodnocení barvy nákroje a obsahu tuku. Naopak studie Chmiel et al. (2011) tuto možnost popírá. Ve své studii došli k závěru, že významnou roli v celém procesu hraje skutečný obsah tuku a kontrast mezi svalovou a tukovou tkání. Čím vyšší je kontrast a větší množství tuku ve vzorku, tím lze dosáhnout u obrazové analýzy přesnějších výsledků. Z důvodu ověření obrazové analýzy na analýzu tuku také v masných výrobcích byly vzorky rovněž hodnoceny tímto způsobem. Z výsledků vyplívá, že obrazovou analýzu nelze použít na stanovení celkového obsahu tuk ve výrobku. Rozdíl měřených hodnot mezi oběma metodami, byl statisticky průkazný ($p<0,01$). Důvodem rozdílu může být také rozdíl ve vyhodnocení. Chemická analýza vyjadřuje výsledek v hmotnostních procentech, přičemž obrazová analýza vyjadřuje výsledek v plošných procentech. Na zjištění vztahu mezi hodnotami metod bez chyby dané vyhodnocením v rozdílných procentech byl použit korelační koeficient. Síla vztahu mezi oběma metodami byla nízká ($R=0,002$, $p>0,05$). Na základě výsledků se tedy jednoznačně lze přiklánět ke studii Chmiel et al. (2001), který použití obrazové analýzy na analýzu masa popírá. Dalším důvodem rozdílů muže být také vysoký podíl rozmělněného tuku v díle výrobku, který obrazovou analýzou makrosnímku s ohledem na rozlišení není možné analyzovat. V případě správnosti tohoto předpokladu lze také konstatovat, že s ohledem na nízkou korelaci, není množství tuku v díle u jednotlivých výrobců jednotné. Rozdíly pravděpodobně dány zvyklosti výrobců a recepturami. I když metoda se nejeví jako správná volba pro stanovení obsahu tuku, kvůli nedestruktivnosti lze obrazovou analýzu použít na kontrolu kvality vymletí díla, sledování standardizace mezi jednotlivými šaržemi a výrobci Graf č.1.



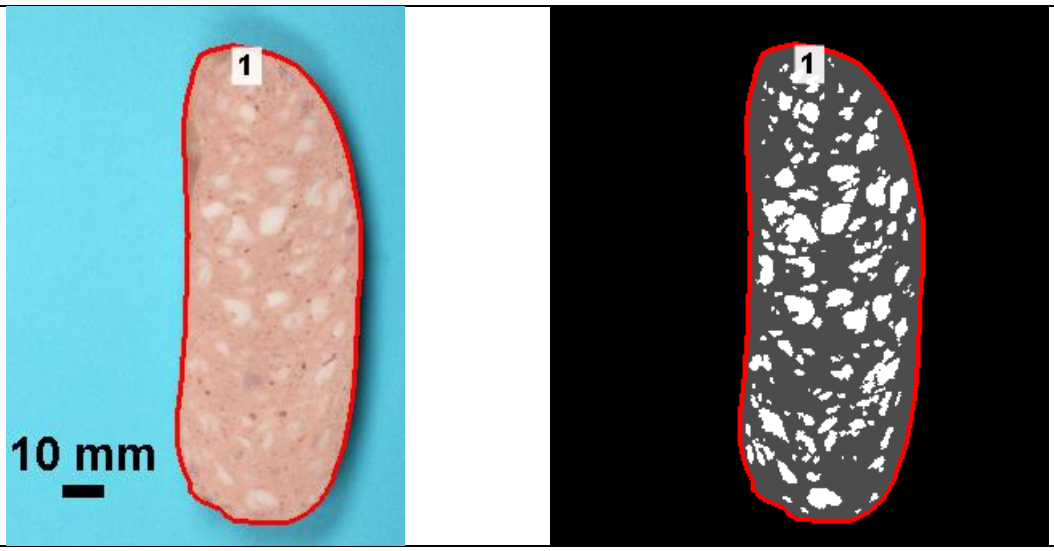
Graf. č. 1: Rozptyl v obsahu tuku u jednotlivých výrobců (CHA – chemická analýza, OA – obrazová analýza).

Z výsledků obrazové analýzy je zřejmé, že nejméně makroskopicky viditelného tuku obsahuje výrobce A4 (Obr. 1) a to až o 46,5 % méně ve srovnání s chemickou analýzou. Lze tedy

předpokládat, že většina tuku byla v průběhu mělnění zapracována do díla výrobku na úkor tukových zrn. Nízké množství makroskopicky viditelného tuku bylo také u výrobce A1 ale rozdíl k chemické analýze byl v tomto případě 32 %. Ve srovnání s výrobcem A13 kde byl rozdíl s chemickou analýzou 42,8 % přičemž, ale obsah makroskopických zrn tuku v mozaice výrobku bylo více než u výrobce A1. U výrobce A12 byl rozdíl s chemickou analýzou 35,3 %, výrobci A3 a A11 se s chemickou analýzou lišili o 25,1 %. Nejmenší rozdíl s chemickou analýzou byl zjištěn u výrobce A2 a to jen 0,9 %. U tohoto výrobce byl také zjištěn obrazovou analýzou nejvyšší obsah tukových zrn v mozaice (Obr. 2). Pro tento výrobek lze tedy předpokládat, že ve srovnání s ostatními výrobci tvoří většinu tuku ve výrobku právě tuková vložka. S ohledem na tento druh výrobku, kde je tuková vložka vyžadována (Vyhláška, 2001) by neměl být důvod tuk maskovat rozmělním v díle výrobku na zlepšení senzorických vlastností, ale naopak v případě přiznání tukových zrn by si spotřebitel mohl vybrat výrobek s tučností, kterou preferuje.



Obr. 1: Mozaika výrobku A4 s nejnižším podílem tukových zrn



Obr. 2: Mozaika výrobku A2 s nejvyšším podílem tukových zrn

Závěr

Obrazová analýz je silným nástrojem pro stanovení celé řady parametrů. Pro stanovení tuku v masných výrobcích však vhodnost této metody nebyla potvrzena. Korelační koeficient obrazové analýzy k analýze chemické byl nízký R=0,002. Z porovnání výsledků chemické a obrazové analýzy rovněž vyplívá, že byl mezi oběma metodami prokázán statisticky vysoko významný rozdíl

(p<0,01). Pro kontrolu masných výrobky, respektive tuku v masných výrobcích lze proto jednoznačně doporučit metodu extrakční. Názory na vhodnost hydrolýzy před samotným zpracováním se liší. Z výsledků obrazové analýzy lze předpokládat, že velký podíl tuku u špekáčků se nachází v díle výrobku nikoli v tukové vložce. I když předpokládaný poměr se liší dle výrobce potažmo postupu výroby.

Literatura

AKOH C., MIN D. *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*. 2 nd. ed., New York: Marcel Dekker, 2002. 1005 p.

ALTMANN, M., PLIQUETT, U. Prediction of intramuscular fat by impedance spectroscopy, *Meat Science*, 2005. 72, p. 666- 671

BAHELKA, I., et al. Využitie ultrasonografie a počítačovej analýzy obrazu pri stanovení obsahu intramuskularneho tuku ošípaných. *Acta fytotechnica at zootechnica*, 2006. Mimořádné číslo, s. 169- 172.

BEN-GERA, ITAMAR; NORRIS, KARL H. Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products. *Journal of Food Science*, 1968, 33.1: 64-67.

CZECH STANDARD ČSN ISO 1444 (576020) with agreement AOAC Official Method 920.39 Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed a AOAC Official Method 954.02 Fat (Crude) or Ether Extract in Pet Food Gravimetric Method

DASIEWICZ, K., MIERZWIŃSKA, I., The use of a computer digital analysis for evaluating the quality of pork trimmings. *Acta*, 2006. 8/2, p. 85- 92

GIROLAMI, Antonio, et al. Image analysis with the computer vision system and the consumer test in evaluating the appearance of Lucanian dry sausage.*Meat science*, 2014, 96.1: 610-616.

HROUDA, aj. (2014): DTest. Test: Špekáčky, 2014. XXI, 5. vyd.

CHMIEL,M., SLOWINSKI, M., DASIEWICZ K. Application of computer vision systems for estimation of fat content in poultry meat. *Food Control*, 2011. 22, p. 1424- 1427.

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) Č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací spotřebitelům

PAVLÍK, Z., aj., Špekáčeky. *Maso, 2013. roč.* 13, č. 4, s. 13 - 18.

PERÉZ-PALACIOS, T., et al., Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products, *Food Chemistry*, 2008. 110, p. 1025– 1029

PROCHÁZKOVÁ, Z., KRÁLOVÁ, M., Blízká infračervená spektrometrie v masném průmyslu. *Maso*, roč. 13, č. 7, s. 28– 32.

SALÁKOVÁ, A., aj., Gothajský salám. *Maso*, 2013. roč. 13, č. 4, s. 18- 23.

SØRLAND, G. H., et al., Determination of total fat and moisture content in meat using low field NMR. *Meat Science*, 2004. 66, p. 543- 550

VYHLÁŠKA MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ Č. 326/2001 SB., kterou se provádí § 18 písm. a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. *Sbírka zákonů*, 2001, č. 126, s. 7414.

P 24

STANOVENÍ OBSAHU MORFINU V MAKOVINĚ METODOU HPLC

Kabátová N., Šulová R.
ÚKZÚZ – ONRL Brno, Hroznová 2, 656 06 Brno

Úvod

Česká republika patří k nejvýznamnějším pěstitelům máku setého nejen v evropském, ale i celosvětovém měřítku. V ČR se pěstuje výhradně mák setý olejného typu, primárně určený k produkci semene pro konzumní účely. U odrůd se středním až vyšším obsahem morfinu v makovině se jako vedlejší produkt využívá i makovina, která se po výmlatu semene uplatňuje ve farmaceutickém průmyslu. Z důvodu možného zneužití opiových alkaloidů, které jsou v rostlině obsaženy, musí být na území ČR při pěstování máku dodržovány podmínky uvedené v zákoně č. 167/1998 Sb. o návykových látkách.

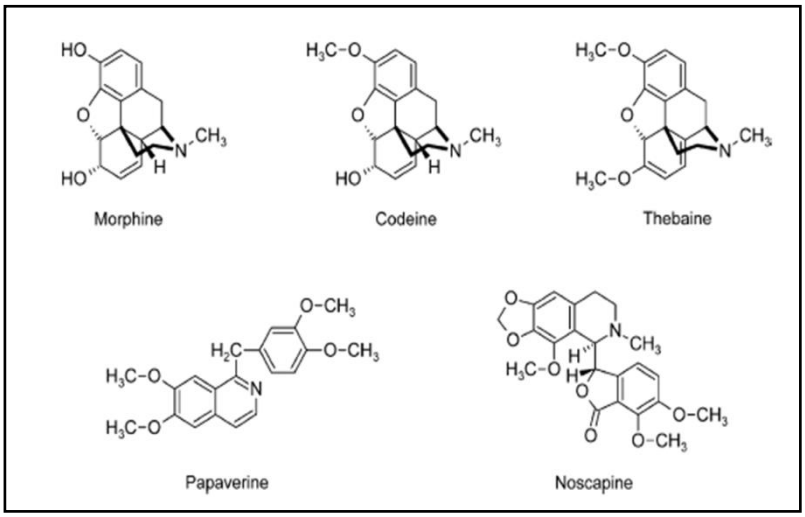
Registraci nových odrůd máku setého provádí Národní odrůdový úřad (NOÚ ÚKZÚZ). Nová odrůda musí projít státními odrůdovými zkouškami. Jedním z kritérií pro posuzování nově vyšlechtěných odrůd, a ověřování výkonnosti již uznaných odrůd, je obsah morfinu v makovině. Toto stanovení se provádí v laboratoři testování odrůd NRL Brno. V roce 2011 zde byl zaveden postup na stanovení morfinu a dalších opiových alkaloidů v makovině metodou HPLC-DAD. Metoda je akreditována podle ČSN EN ISO 17025.

V letech 2014 a 2015 byl u vybraných odrůd máku setého sledován vliv klimatických podmínek na obsah morfinu v makovině.

Alkaloidy v máku setém

Celá rostlina máku s výjimkou semen je protkána mléčnicemi ronícími při porušení bílé mléko tzv. latex, který po usušení a ztuhnutí představuje surové opium, obsahující vysoký podíl alkaloidů. U máku setého (Papaver somniferum L.) bylo popsáno více než čtyřicet různých alkaloidů. Lze je rozdělit do následujících typů:

morfinanový (fenanthrenový) - morfin, kodein, thebain, neopin, pseudomorfin,
benzylisochinolinový - papaverin, laudanin, laudanidin, gnoskopin, papaveraldin,
ftalidisochinolinový - narkotin (syn. noskapin), narkotolin, narcein, nornarcein,
protoberberinu - berberin.



Obr. č. 1: Hlavní alkaloidy máku setého

Obsah jednotlivých alkaloidů se v máku v průběhu vegetační doby mění, k nejvyšší akumulaci alkaloidů dochází v době dvou týdnů od počátku opadu korunních plátků. V tobolkách je obsah opia nejvyšší v období opiové zralosti, tzn. asi 10 až 12 dnů před plným dozráváním. Semena máku alkaloidy neobsahují. Stopová množství alkaloidů nalezená v semeni jsou způsobena jeho znečištěním prachovými částicemi makoviny při sklizni, případně potřísněním máku latexem při sklizni nedostatečně zralého porostu.

Vliv klimatických podmínek na obsah morfinu v makovině

Výskyt a obsah alkaloidů v makovině je ovlivněn především genetickým základem odrůd, dále závisí na klimatických podmínkách, zvláště pak na průběhu počasí v době dozrávání, na obsahu látek v půdě, ovzduší nebo způsobu pěstování.

V laboratoři testování odrůd NRL Brno se pro potřeby NOÚ provádí stanovení obsahu morfinu v makovině u zkoušených odrůd máku setého. Jednotlivé odrůdy jsou pěstovány za přesně stanovených agrotechnických podmínek na zkušebních stanicích ÚKZÚZ. Tyto stanice se liší půdními a klimatickými podmínkami. Vzhledem k velmi rozdílnému průběhu počasí v letech 2014 a 2015 bylo provedeno srovnání obsahu morfinu v makovině u sledovaných odrůd máku setého mezi jednotlivými sklizněmi. Cílem práce bylo zjistit, jak výkyvy počasí ovlivňují jeho obsah v makovině.

Metoda na stanovení morfinu v makovině

Morfin se z pomletého vzorku makoviny extrahuje buď směsí chloroformu, isopropanolu, ethanolu, amoniaku nebo extrakcí 5% kyselinou octovou, po níž následuje přečištění pomocí SPE. Následně se stanoví metodou HPLC s detekcí v UV oblasti při 284 nm.

Příprava zkušebního vzorku

Celý laboratorní vzorek makoviny se bez jakékoliv další úpravy pomele na ultraodstředivém mlýnku Retsch ZM 200 nebo obdobném zařízení. Pro extrakci směsí rozpouštědel se volí síto s velikostí ok 1 mm, pro extrakci kyselinou octovou, síto s velikostí ok 0,5 mm.

Extrakce morfinu

A. Extrakce extrakční směsí chloroformu, isopropanolu, ethanolu, amoniaku

Vzorek makoviny se extrahuje směsí, která se připraví z chloroformu, isopropanolu, ethanolu a amoniaku v objemovém poměru 6:2:1,5:0,5. Extrakce se provádí na laboratorní třepačce po dobu 1 h. Poté se extrakt přefiltruje a pomocí extrakční směsi se doplní na vhodný objem.

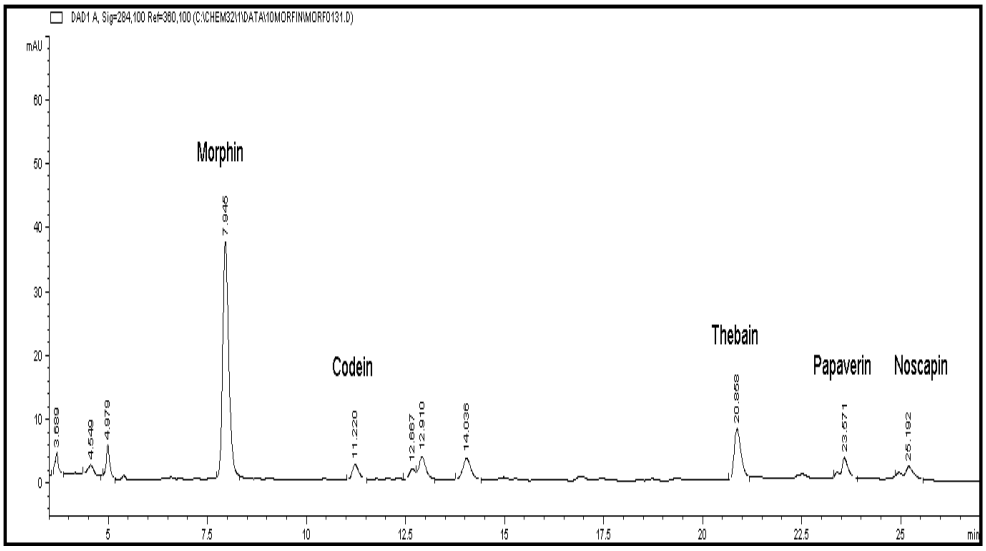
B. Extrakce kyselinou octovou s následným přečištěním pomocí SPE

Vzorek makoviny umístěný v centrifugační zkumavce se extrahuje 5% roztokem kyseliny octové. Extrakce se provádí v ultrazvukové lázni po dobu 30 min. Následně se obsah zkumavky promíchá na minitřepačce a odstředí. Takto připravený extrakt se přečistí pomocí SPE kolonek Oasis MCX.

Po ukončení extrakce se odstraní extrakční, případně eluční činidlo, a morfin se rozpustí v methanolu.

Chromatografické stanovení

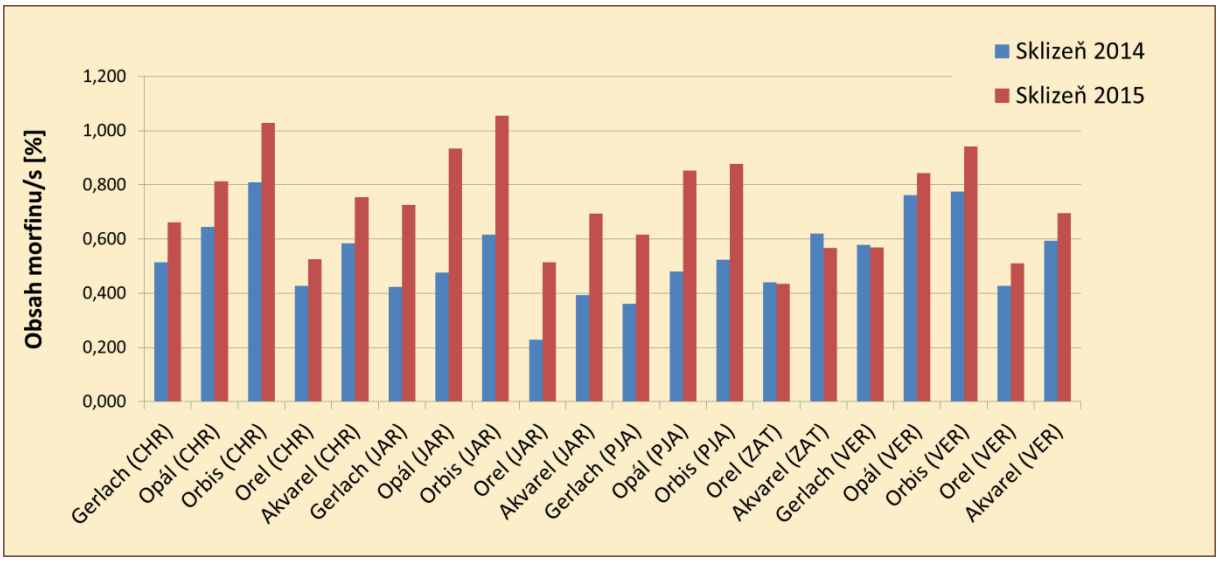
Vlastní analýza se provádí metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s využitím DAD detektoru. Alkaloidy se separují gradientovou elucí na chromatografické koloně s reverzní fází např. TSK gel ODS-120T. Jako mobilní fáze A se použije acetonitril, mobilní fáze B je heptansulfonát sodný (roztok 10 mmol/l, pH 3,5). Detekce probíhá při 284 nm.



Obr. č. 2: Chromatogram - reálný vzorek makoviny

Diskuse a závěr

Vzhledem k velmi rozdílnému průběhu počasí v letech 2014 a 2015 bylo provedeno srovnání obsahu morfinu v makovině u sledovaných odrůd máku setého mezi jednotlivými sklizněmi. Cílem práce bylo zjistit, jaký vliv mají výkyvy počasí na jeho obsah. Sledované odrůdy byly pěstovány za přesně stanovených agrotechnických podmínek na pěti zkušebních stanicích ÚKZÚZ. Tyto stanice se liší půdními a klimatickými podmínkami. Na vybraných zkušebních stanicích byly sledovány teploty a úhrny srážek v období 30 dnů před sklizní. Z tabulky č. 1 je patrné, že se sledované sklizně liší nejen průměrnými teplotami, ale jsou zde především významné rozdíly v dosaženém množství srážek. Rok 2015 byl nadprůměrně teplý a suchý. V roce 2014 bylo naopak naměřené množství srážek, v porovnání s dlouhodobým průměrem, vyšší.



Obr. č. 3: Obsah morfinu v sušině makoviny testovaných odrůd máku setého, pěstovaných v daných lokalitách v letech 2014 a 2015.

Lokalita	Průměrné hodnoty		Sklizeň 2014			Sklizeň 2015		
	Teplota °C	Srážky mm	Datum	Teplota °C	Srážky mm	Datum	Teplota °C	Srážky mm
Chrlice	19,3	59	28.7.	21,3	107,9	4.8.	22,7	35,1
Jaroměřice	18,1	71	18.8.	18,5	108,4	10.8.	22,0	23,8
P. Jakartice	18,0	92	6.8.	20,3	97,1	5.8.	21,0	25,7
Žatec	19,1	60	14.8.	20,7	93,5	10.8.	21,0	41,1
Věrovany	18,9	71	6.8.	21,0	44,2	10.8.	23,3	28,5

Tab. č. 1: Průměrné teploty a množství srážek na vybraných lokalitách v období 30-ti dnů před sklizní. Srovnání s dlouhodobým sledováním srážek a teplot v daných lokalitách.

Získané výsledky, viz grafické znázornění na obr. č. 3, potvrzují předpoklad, že obsah morfinu v makovině závisí především na odrůdě, ale nezanedbatelný je i vliv půdních a klimatických podmínek. Např. u odrůdy Orbis se zjištěné obsahy morfinu v sušině makoviny u jednotlivých vzorků pohybovaly v rozmezí (0,524 - 1,055) %. Obsah morfinu se u dané odrůdy tedy liší v závislosti na lokalitě a ročníku sklizně. Pořadí jednotlivých testovaných odrůd z hlediska obsahu morfinu v makovině na jednotlivých zkušebních stanicích však zůstává zachováno.

Při porovnání sklizňových ročníků 2014 a 2015 je jasně patrný vliv suchého a teplého počasí v roce 2015 na výrazné zvýšení obsahu morfinu makovině u všech odrůd, na všech zkušebních stanicích.

Literatura

1. Vašák, J. a kolektiv autorů: Mák. 1. vydání, Český mák - sdružení právnických a fyzických osob a ČZU Praha, 2010
2. Mištová, T.: Bakalářská práce: Alkaloidy obsažené v rostlinách čeledi *Papaveraceae* Juss., Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně - Fakulta technologická, 2009
3. Yoshimatsu, K., Kiuchi, F., Shimomura, K., Makino,Y.: A Rapid and Reliable Solid-Phase Extraction Method for High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Opium Alkaloids from *Papaver* Plants. Chem. Pharm. Bull., 2005, 53(11), 1446-1450
4. Ludvík, J.: SOČ - Stanovení morfinu v makovině, Střední průmyslová škola chemická Brno, 2016.

Sborník příspěvků
XLVI. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

Vydala: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5, 166 28 Praha 6
Editor: Karel Cejpek
Rok vydání: 2016
Počet stran: 201
Elektronická verze publikace ve formátu PDF.