

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

XLV. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

25.-27. 5. 2015

Skalský Dvůr



VŠCHT PRAHA



Karel Cejpek, Jindřich Špicner
editoři

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

Praha 2015

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou.
Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

© Karel Cejpek, Jindřich Špicner, 2015

ISBN 978-80-86909-11-0 (Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.)
ISBN 978-80-7080-937-2 (Vysoká škola chemicko-technologická v Praze)
ISSN 1802-1433 (Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.)

Obsah

R - referáty
P - postery

	Str.
R1	6 Hajšlová J.: Chemické „cocktaily“ v potravinách – strategie sledování biologických efektů
R2	6 Prudil M., Urban J.: Biopotraviny – kontrola z pole až na talíř, komplexní chápání kvality potravin v ekologickém zemědělství
R3	6 Nepejchalová L., Hera A.: Rezidua veterinárních léčiv v potravinách živočišného původu
R4	7 Kouřimská L., Adámková A., Borkovcová M.: Konzumace jedlého hmyzu z hlediska nutriční a hygienické jakosti
R6	16 Pokora J., Schulzová M.: Voda v potravinách
R7	17 Slavíková P., Vytejšková S., Jířů M., Bělková B., Zachariášová M., Kocourek V., Hajšlová J.: Komplexní zhodnocení kvality a chemické bezpečnosti kávy
R8	26 Macháčková, M.: Novinky v online verzi databáze složení potravin České republiky - www.nutridatabase.cz
R9	30 Panovská Z., Ilko V., Míková K.: Glutamát - musíme se bát?
R10	30 Dostálová J., Brát J.: Sůl ve výživě člověka a její obsah v potravinách
R11	34 Brát J., Skřivan P., Dostálová J.: Chléb a pečivo jako součást pestré a vyvážené stravy
R12	38 Hrušková M., Švec I., Čápková V.: Přírodní zdroje vlákniny pro obohacení cereálních výrobků na bázi pšeničné mouky
R13	42 Krmela A., Schulzová V., Hajšlová J.: Topinambur hlíznatý (<i>Helianthus tuberosus</i>) – zdroj inulinu pro různé aplikace
R15	43 Švec I., Hrušková M., Burdová D.: Znaky pšeničného pečiva a textura výrobků s přísadami konopí, chia a tef
R16	47 Džuman Z., Slavíková P., Vepříková Z., Zachariášová Z., Hajšlová J.: Mykotoxinová kontaminace cereálních výrobků z českého trhu
R17	52 Vepříková Z., Džuman Z., Slavíková P., Hajšlová J., Zachariášová M.: Enniatiny, „nové“ toxické metabolity vláknitých plísní rodu <i>Fusarium</i>
R18	55 Hrbek V., Bícová M., Krmela A., Hajšlová J.: Výskyt polárních pesticidů v rostlinných komoditách
R19	59 Zachariášová A., Zachariášová M., Krtková V., Forejtová E., Hajšlová J.: Tropanové alkaloidy: nově sledované přírodní toxiny v potravinách a doplňcích stravy
R20	59 Hůrková K., Adamcová V.: Bezlepkové směsi CULINAR
R21	60 Fleglová I.: Alphatec - moderní způsob stanovení pádového čísla v obilí a mouce
R22	60 Kaplan R.: Laboratorní přístrojové vybavení büchi pro stanovení dusíku a tuku
R23	60 Soukeník P.: Nové potravinářské suroviny od firmy AZELIS
R24	61 Boroň J., Novotný P.: Výhody alternativních testů aktivity endokrinních disruptorů a genotoxicity

R25	62 Tobolková B., Belajová E., Polovka M., Durec J.: Zlepšení kvality pomerančových šťáv s dužinou aplikací inertní atmosféry
R26	67 Kopuncová M., Sádecká J., Kolek E., Durec J.: Vplyv ochranné atmosféry na stabilitu arómy pomarančovej šťavy s dužinou
R27	71 Neradová E., Al-Balaa D., Haubeltová A., Kvasnička F., Čížková H.: Borůvky: charakterizace pro účely hodnocení autenticity výrobků z nich
R28	75 Kružík V., Vrácovská E., Grégrová A., Štětina J., Hrádková I., Čížková H.: Technologické aspekty průmyslového zpracování medu
R30	79 Cejpek K., Knitlová P.: Vliv fenolových antioxidantů a dalších faktorů na vznik redukujících látek v Maillardově reakci
R31	83 Bělková B., Čápková H., Bazalková K., Hradecký J., Hajšlová J.: Akrylamid a estery 3-MPCD v cereálních produktech
R32	87 Doležal M., Ilko V., Matějková K.: Snížení obsahu chlorpropanolů v potravinách
R33	91 Matějková K., Ilko V., Doležal M.: Degradace esterů 3-chlorpropan-1,2-diolu a glycidolu
R34	96 Endlová L., Vrbovský V., Navrátilová Z., Klíma M.: Sledování obsahu mastných kyselin v segmentech semen a dělohách mikrosporových embryí řepky olejky ozimé (<i>Brassica napus</i>)
R35	100 Saláková A., Kameník J. : Porovnání jakosti masných výrobků získaných z řemeslné malovýroby a průmyslové výroby
R36	104 Lanková D., Vincíková A., Pulkrabová J., Hajšlová J.: Halogenované kontaminanty a jejich deriváty v mořských plodech dostupných na českém trhu
R37	109 Vytečková S., Hradecký J., Vápenka L., Poustka J.: Charakterizace biodegradovatelného plastu na bázi polybutylensukcinátu za účelem balení masa
R37	113 Vápenka L., Vavrouš A., Votavová L., Dobiáš J.: Bezpečnost obalů potravin na bázi papíru
P1	117 Bícová M., Krtková V., Chmelařová H., Hajšlová J.: Sledování profilů opiových alkaloidů v máku setém (<i>Papaver somniferum</i> L.)
P2	121 Klimešová I., Kubík M., Marešová E.: Problematika amygdalinu v potravinách
P3	122 Neradová E., Grégrová A., Kovařík F., Rajchl A., Čížková H.: Možnosti odhalení přibarvování ovocných přesnídávek s jahodami a jablky
P4	127 Al-Balaa D., Prchalová J., Kružík V., Rajchl A., Čížková H.: Combined approach for characterization and quality evaluation of apple juices - DART-TOF MS implementation
P5	131 Grégrová A., Kružík V., Kovařík F., Rajchl A., Čížková H.: Posouzení kvalitativních parametrů 100% šťáv z kustovnice cizí
P6	135 Prchalová J., Kovařík F., Radovská V., Rajchl A.: Využití techniky DART-TOF MS pro hodnocení kvality a autenticity bylinných čajů
P7	139 Prchalová J., Čížková H., Rajchl A.: Hodnocení kvality a autenticity ledových čajů metodou DART-TOF MS
P8	144 Ilko V., Hauser J., Revenco D., Panovská Z.: Senzorické hodnocení zelených čajů
P9	150 Stupák M., Hajšlová J.: Nová strategie hodnocení autenticity whisky

P10	151 Zajoncová L., Pospíšilová M.: Imobilizace alfa-amylasy na magnetické nosiče a její využití v potravinářském průmyslu
P11	156 Kružík V., Vápenka L., Škorpilová T., Vrácovská E., Čížková H.: Průkaz falšování medu příkrmováním včel tekutými sirupy – nové přístupy
P12	157 Dluhošová S., Zábrodská B., Bartáková K., Vorlová L.: Změny vybraných fyzikálně chemických parametrů medů po deseti letech skladování
P13	161 Halouzka R., Cavar Zjelkovic S., Tarkowski P.: Vybrané metody fyzikální a chemické analýzy medu
P14	162 Bernreiterová H., Kleckerová A., Dočekalová H.: Luštěniny jako zdroj vybraných makro a mikronutrientů
P15	165 Krtková V., Schulzová V., Hajšlová J.: Fytoestrogeny v doplňcích stravy
P16	169 Hauser J., Doležal M., Ilko V., Pudil F.: Analýza lipidické frakce vybraných plodnic hub [abstrakt – plný text str. 200]
P17	170 Kupcová K., Štefanová I., Kubec R.: Senzoricky aktivní sirné sloučeniny houževnatce jedlého (<i>Lentinula edodes</i>)
P18	175 Šístková I., Kružík V., Čížková H.: Predikce trvanlivosti neúdržných potravin: studené emulgované omáčky
P19	180 Kleinová J., Mareš J., Brabec T., Mareček J.: Vliv délky sádkování na spektrum mastných kyselin v tuku kapra obecného (<i>Cyprinus carpio</i> L.)
P20	184 Kleckerová A., Chadimová K., Dočekalová H., Pelcová P., Vičarová P.: Analýza vybraných prvků ve svalovině pangase spodnookého
P21	187 Vičarová P., Smolíková V., Pelcová P., Kleckerová A., Dočekalová H.: Stanovení chemických forem rtuti v pangasu spodnookém (<i>Pangasius hypophthalmus</i>)
P22	190 Adámková A., Kouřimská L., Borkovcová M.: Porovnání složení a nutriční kvality hmyzu ze Sumatry a chovaného v ČR
P23	194 Jůzl M., Kalhotka L., Jahodová H., Burdová E.: Vliv stupně mělnění a volby obalu na jakostní parametry u paštik
P24	195 Revenco D., Fongusová A., Koplík R.: Obsah alkalických prvků a fosforu v mléčných výrobcích na českém trhu
P25	199 Fleglová I. : Alphatec- bezpečný a moderní způsob provedení standardní metody pro stanovení pádového čísla
P16	200 Hauser J., Doležal M., Ilko V., Pudil F.: Analýza lipidické frakce vybraných plodnic hub

R 1**CHEMICKÉ „COCKTAILY“ V POTRAVINÁCH – STRATEGIE SLEDOVÁNÍ BIOLOGICKÝCH EFEKTŮ**

Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

R 2**BIOPOTRAVINY – KONTROLA Z POLE AŽ NA TALÍŘ, KOMPLEXNÍ CHÁPÁNÍ KVALITY POTRAVIN V EKOLOGICKÉM ZEMĚDĚLSTVÍ**

Prudil M., Urban J.

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno

R 3**REZIDUA VETERINÁRNÍCH LÉČIV V POTRAVINÁCH ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU**

Nepejchalová L. (1), Hera A. (1, 2)

(1) Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno;

(2) Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

Pro léčbu potravinových druhů zvířat lze registrovat pouze veterinární léčivé přípravky (VLP), které obsahují farmakologicky účinné látky, klasifikované podle nařízení 470/2009, kterým se stanoví postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu, a zařazené v tabulce povolených látek nařízení 37/2010 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí (MRL) v potravinách živočišného původu. MRL jsou referenčními údaji a hodnotami pro stanovení ochranných lhůt v průběhu registračního procesu VLP určených k použití u zvířat určených k produkci potravin. A jsou jako referenční používány i v monitoringu cizorodých látek. MRL odpovídá maximální koncentraci reziduí farmakologicky účinné látky, která je povolena v potravinách živočišného původu a je stanovena v souladu s obecně uznávanými zásadami hodnocení bezpečnosti s přihlédnutím k toxikologickým rizikům, znečištění životního prostředí a k mikrobiologickým a farmakologickým účinkům jejich reziduí.

Podle nařízení 470/2009 musí být klasifikovány všechny látky používané jak ve VLP registrovaných v EU, ale i ve VLP registrovaných ve třetích zemích, z nichž by se mohly živočišné produkty dostat na evropský trh. Další velkou skupinou látek, pro kterou musí být nastaveny maximální reziduální limity, jsou biocidní přípravky používané v chovech zvířat. Za nastavení MRL odpovídá Evropská komise, ta rozhoduje o publikaci MRL na základě stanovisek vypracovaných Evropskou lékovou agenturou (EMA), konkrétně Výborem pro veterinární léčivé přípravky (CVMP).

Evropa volá po lepší dostupnosti registrovaných VLP pro léčbu potravinových zvířat, při jejímž použití je zaručena vysoká úroveň ochrany zdraví konzumenta. Proto je úkolem Komise při každém stanovení limitů pro určitý druh zvířat a určité získávané potraviny, zvážit možnost extrapolace limitů i na jinou potravinu získanou ze stejného druhu nebo na další druhy potravinových zvířat.

R 4**KONZUMACE JEDLÉHO HMYZU Z HLEDISKA NUTRIČNÍ A HYGIENICKÉ JAKOSTI**

Kouřimská L. (1), Adámková A. (1), Borkovcová M. (2)

(1) Katedra kvality zemědělských produktů, ČZU v Praze;

(2) Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Pro mnoho národů a etnických skupin je hmyz nepostradatelnou součástí jídelníčku a často je základem tradičních pokrmů. S rostoucí populací lidstva se jedlý hmyz může stát nezanedbatelným zdrojem živin ve výživě člověka.

Z nutričního hlediska je u hmyzu významný obsah bílkovin, který je vyšší než u mnoha rostlin. V závislosti na druhu a vývojovém stádiu hmyzu se pohybuje od 20 do 76 %. Většina druhů hmyzu obsahuje dostatečné množství aminokyselin pro naplnění nutričních potřeb člověka. Stravitelnost hmyzího proteinu je kolem 89 %. Rozdíly v obsahu tuku jsou velmi značné (2 až 50 %) a závisí na mnoha faktorech. Z hlediska vývojového stádia obsahují největší množství tuku larvy a kukly, u dospělců je obsah tuku obecně nižší. Složení mastných kyselin se u jednotlivých druhů liší, nejvíce se projevuje vliv hostitelské rostliny, kterou se hmyz živí. V porovnání s živočišnými tuky je obsah esenciálních mastných kyselin vyšší, celkový obsah polyenových mastných kyselin může dosahovat až 70 %. Jedlé druhy hmyzu obsahují méně sacharidů, než bílkovin a tuku. Jejich obsah se pohybuje obvykle v rozmezí 1 až 10 %. Sacharidy u hmyzu jsou zastoupeny převážně chitinem, jehož obsah je u různých druhů různý a pohybuje se většinou mezi 5 až 16 %. Jedlý hmyz obsahuje velké množství stopových prvků (K, Na, Ca, Cu, Fe, Zn, Mn a P), z vitaminů pak vitamin A, karoteny, vitaminy skupiny B a dále vitaminy D, E, K, a C.

Z hygienického hlediska je ale třeba poukázat na to, že některé druhy hmyzu produkují nebo obsahují silné farmakologické sloučeniny, které jsou známými toxiny pro obratlovce. Mohou také obsahovat rezidua pesticidů a těžkých kovů z ekosystému. Konzumaci jedlého hmyzu je třeba zvážit také s ohledem na alergické reakce, které byly zdokumentovány například u potměníka moučného a různých druhů rovnokřídlých.

Úvod

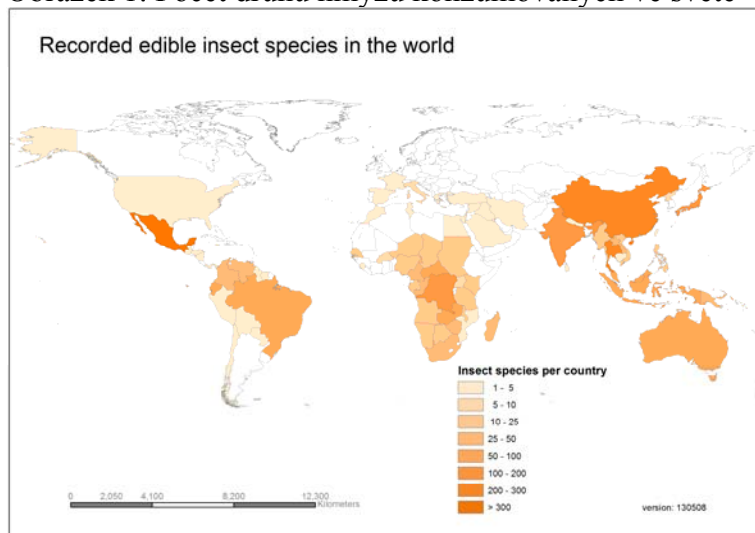
Pojem „entomofagie“ (z řeckých slov έντομον éntomon, "hmyz", a φάγειν phagein, "jíst") znamená využívání hmyzu jako potravin. Vajíčka, larvy, dospělci a jiná vývojová stadia hmyzu byly využívány již v prehistorických dobách jako složka potravy u lidí a tento trend pokračuje i v moderní době. Člověk se v raném vývoji živil jako všežravec ve značné míře i hmyzem. Před tím, než měli lidé nástroje k lovu nebo zemědělství, představoval hmyz důležitou složku jejich potravy. Kromě toho žili lidé převážně v teplých oblastech, kde byly různé druhy hmyzu k nalezení celoročně. Při nedostatku masa obratlovců se hmyz mnohdy stával vítaným zdrojem bílkovin (Sponheimer et al., 2005).

Konkrétní důkazy konzumace hmyzu v lidské historii pak získáváme z analýz fosilií např. z jeskyň v USA a Mexiku či z maleb v jeskyních Artamila v severním Španělsku (9000 - 3000 let př. n. l.) (Lesnik, 2014). Nalezené důkazy o entomofagii byly potvrzeny i pomocí analytických technik. Například zkamenělé exkrementy z jeskyň v Mexiku obsahovaly mravence, larvy brouků, vši, klíšťata a roztoče (Meyer-Rochow, 2009). Dále bylo pomocí analýzy stabilních izotopů uhlíku zjištěno, že kosti i sklovina Australopitéků jsou výrazně obohaceny izotopem ¹³C. Nasvědčuje to tomu, že potravou těchto lidí byli převážně živočišné živíci se trávami včetně hmyzu (Sponheimer and Lee-Thorp, 1999).

Dnes je entomofagie tradičně vykonávána ve 113 zemích celého světa. Je evidováno více než 2000 jedlých druhů hmyzu. V celosvětovém měřítku jsou nejčastěji konzumovaným hmyzem brouci, dále pak housenky, včely, vosy a mravenci. Po nich následují kobylky, sarančata a cvrčci, cikády, křískovití a ploštice, termiti, vážky, mouchy další druhy (Cerritos, 2009). Největší konzumace hmyzu (Obr. 1) je v Africe, Asii a Latinské Americe (van Huis, 2013; Kinyuru et al.,

2013). Ve většině evropských zemí, je spotřeba hmyzu lidmi velice malá a často dokonce kulturně nevhodná. Nutriční hodnota hmyzu je ale srovnatelná s běžně konzumovaným masem. S ohledem na rostoucí počet obyvatel a s tím spojenou rostoucí poptávku po produkci tradičního hovězího, vepřového a kuřecího masa by se mělo o hmyzu, jako zdroji živočišných bílkovin, seriózně uvažovat (Dreon and Paoletti, 2009).

Obrázek 1: Počet druhů hmyzu konzumovaných ve světě



Zdroj: van Huis et al., 2013

V České republice by z hlediska podmínek chovu bylo možno konzumovat následující druhy hmyzu: cvrček domácí (*Acheta domestica*), cvrček stepní (*Gryllus assimilis*), saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*), saranče pustinná (*Schistocerca gregaria*), potemník moučný (*Tenebrio molitor*), potemník brazilský (*Zophobas morio*), včela medonosná (*Apis mellifera*) a zavíječ voskový (*Galleria mellonella*) (Bednářová, 2013).

Proč konzumovat hmyz?

S nárůstem světové populace je zvýšená poptávka po zdroji proteinu a množství dostupné zemědělské půdy je omezené. V roce 2050 je světová populace odhadována na více než 9 miliard lidí, což vede ke zvýšení potřeby potravin až o polovinu vzhledem k momentální potřebě. Konvenční zdroje proteinů mohou být nedostačující a bude potřeba se zaměřit na alternativní zdroje, kterými může být i jedlý hmyz (Godfray et al., 2010; Luan et al., 2013). V Africe, jihovýchodní Asii a v severní části Latinské Ameriky je tato početná skupina živočichů vyhledávanou lahůdkou a zajímavým obohacením sortimentu. Například v Mexiku je po hovězím a fazolích hmyz třetím národním jídlem. (Cerritos and Cano-Santana, 2008).

Ve srovnání s chovem hospodářských zvířat se zdá být chov hmyzu šetrnější k životnímu prostředí, vzhledem k menší tvorbě skleníkových plynů, spotřebě vody a půdy (van Huis et al., 2013). Hmyz má ve srovnání s hospodářskými zvířaty vysokou konverzi krmiva (tj. schopnost využít živiny k tvorbě vlastního organismu). Van Huis et al. (2013) dokonce uvádí konverzi krmiva cvrčka domácího (*Acheta domestica*) jako 2x efektivnější oproti kuřatům, 4x vyšší než u prasat a více jak 12x vyšší než u skotu.

Zajímavým pozitivním aspektem entomofágie je pomoc při snížení používání pesticidů. Řízený sběr jedlého hmyzu, který je považován za škůdce hospodářských plodin může přispět k menší potřebě insekticidů. Kromě toho by měly být brány v úvahu také ekonomické výhody sběru hmyzu v porovnání s pěstováním rostlin. Například v Mexiku přináší sběr hmyzu k lidské konzumaci pozitiva ve smyslu snížení množství pesticidů při rostlinné zemědělské produkci a tím snížení finanční zátěže na rodinu zemědělce (Cerritos, 2009).

Nutriční hodnota jedlého hmyzu

Nutriční hodnota jedlého hmyzu je velmi různorodá především kvůli množství a variabilitě druhů. I v rámci jedné skupiny hmyzu se mohou nutriční hodnoty značně lišit v závislosti na stupni metamorfózy, původu hmyzu a jeho potravě. Stejně jako většina potravin i hmyz mění svojí nutriční hodnotu také vlivem přípravy a zpracováním před konzumací (sušení, vaření, smažení) (van Huis et al., 2013). Většina jedlého hmyzu poskytuje dostatečné množství energie a proteinů, splňuje požadavky aminokyselin pro člověka, má vysoký obsah mono a polyenových mastných kyselin, je bohatá na stopové prvky jako je měď, železo, hořčík, mangan, fosfor, selen a zinek, stejně jako riboflavin, kyselinu pantothenovou, biotin a v některých případech kyselinu listovou (Rumpold and Schlüter, 2013).

Energetická hodnota

Energetická hodnota jedlého hmyzu závisí na jeho složení a to zejména na obsahu tuku. Larvální stadia nebo kukly bývají obvykle bohatší na energii v porovnání s dospělci. Bílkovinné druhy hmyzu mají naopak obsah energie nižší (Bednářová, 2013). Ramos-Elorduy et al. (1997) analyzovali 78 druhů hmyzu a uvádějí, že kalorická hodnota byla v rozmezí 293 - 762 kcal na 100 g sušiny.

Tabulka 1 uvádí energetickou hodnotu vybraných druhů jedlého hmyzu vyjádřenou v kcal na 100 g čerstvé hmotnosti (van Huis et al., 2013).

Tabulka 1: Energetická hodnota jedlého hmyzu

Český název	Latinský název	Stádium	Lokalita	En. hodnota (kcal/100 g)
Saranče tlustá	<i>Chortoicetes terminifera</i>	dospělec	Austrálie	499
Mravenec křeččík	<i>Oecophylla smaragdina</i>	dospělec	Austrálie	1272
Potemník moučný	<i>Tenebrio molitor</i>	larva	USA	206
Potemník moučný	<i>Tenebrio molitor</i>	dospělec	USA	138
Mravenec atta	<i>Atta mexicana</i>	dospělec	Mexiko	404
Cvrček dvouskvrnný	<i>Gryllus bimaculatus</i>	dospělec	Thajsko	120
Kobylka	<i>Oxya japonica</i>	dospělec	Thajsko	149
Kobylka	<i>Cyrtacanthacris tatarica</i>	dospělec	Thajsko	89
Bourec morušový	<i>Bombyx mori</i>	kukla	Thajsko	94
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	dospělec	Nizozemí	179

Zdroj: van Huis et al., 2013

Bílkoviny

Bednářová (2013) zkoumala obsah celkového proteinu u sedmi druhů hmyzu. Obsah celkového proteinu byl u všech sledovaných druhů hmyzu poměrně vyrovnaný s výjimkou zavíječe voskového (*Galleria mellonella*), kde byl obsah bílkovin pouze 38,41 %. U ostatních druhů se procentuální obsah pohyboval od 50,86 % u potemníka moučného (*Tenebrio molitor*) do 62,21 % u saranče stěhovavé (*Locusta migratoria*). Xiaoming et al. (2010) hodnotili obsah bílkovin u 100 druhů hmyzu. Obsah proteinu byl v rozmezí 13 až 77 % v sušině (Tabulka 2), což odráží velkou variabilitu zkoumaného hmyzu. V Mexiku bylo zkoumáno 87 jedlých druhů hmyzu a průměrný obsah bílkovin v sušině byl uveden od 15 % do 81 %. Ve studii byla také zkoumána stravitelnost proteinů hmyzu, která činí 76 - 96 % (Ramos Elorduy et al., 1997), což je v průměru jen o něco méně než u vaječné bílkoviny (95 %) či hovězího masa (98 %) a naopak více, než u mnoha rostlinných bílkovin (Finke, 2004).

Naměřené množství dusíkatých látek hmyzu může být vyšší než jejich skutečný obsah bílkovin jelikož určité množství dusíku je také vázáno v exoskeletech (Klunder et al., 2012). Finke (2007) uvedl obsah chitinu u hmyzu komerčně chovaného v rozmezí od 2,7 mg do 49,8 mg na kg (čerstvé hmotnosti) a od 11,6 mg do 137,2 mg na kg (sušiny). Chitin je podobně jako celulóza z velké části nestravitelný lidmi, a proto jeho odstranění zlepšuje stravitelnost proteinu hmyzu (Finke, 2007).

Tabulka 2: Obsah bílkovin ve 100 druzích jedlého hmyzu

Český název řádu	Latinský název	Stádium	Obsah bílkovin (% v sušině)
Brouci	<i>Coleoptera</i>	dospělci a larvy	23 - 66
Motýli	<i>Lepidoptera</i>	kukly a larvy	14 - 68
Polokřídli	<i>Hemiptera</i>	dospělci a larvy	42 - 74
Stejnokřídli	<i>Homoptera</i>	dospělci, larvy a vajíčka	45 - 57
Blanokřídli	<i>Hymenoptera</i>	dospělci, kukly, larvy a vajíčka	13 - 77
Vážky	<i>Odonata</i>	dospělci a najády	46 - 65
Rovnokřídli	<i>Orthoptera</i>	dospělci a nymfy	23 - 65

Zdroj: Xiaoming et al., 2010

Posuzujeme-li aminokyselinové složení jedlého hmyzu, obsahuje řadu nutričně cenných aminokyselin včetně vysokého obsahu fenylalaninu a tyrosinu. Některé druhy hmyzu obsahují velké množství lysinu, tryptofanu a threoninu, který bývá deficitním v některých proteinech obilovin. Kupříkladu v Angole by příjem těchto živin mohl být doplněn konzumací termitů rodu *Macrotermes subhyalinus* (Sogbesan a Ugwumba, 2008). Domorodci v Papui-Nové Guineji se běžně stravují hlízami, které jsou na obsah lysinu a leucinu chudé. Vzniklou nutriční mezeru proto kompenzují konzumací larev brouka čeledi *Rhynchophorus*, které mají množství lysinu naopak vysoké. Hlízy naopak obsahují vysoký podíl tryptofanu a aromatických aminokyselin, které jsou v larvách brouka čeledi *Rhynchophorus* obsaženy v omezeném množství. Nutriční příjem z takovéto stravy je proto vyvážený (Bukkens, 2005; FAO, 2013). Analýzy téměř stovky jedlých druhů hmyzu ukazují, že obsah esenciálních aminokyselin tvoří 46 - 96 % z celkového množství aminokyselin (Xiaoming et al., 2008).

Tuky

Jedlý hmyz obsahuje průměrně 10 až 60 % tuku v sušině (Tabulka 3). Je vyšší v larválních stádiích než v dospělosti (Xiaoming et al., 2010). Housenky patří mezi hmyz s nejvyšším obsahem tuku. Tzompa-Sosa et al. (2014) uvádějí celkový obsah tuku u housenek (*Lepidoptera*) v rozmezí 8,6 - 15,2 g na 100 g hmyzu. Naopak u kobylek a příbuzných druhů *Orthoptera* se obsah tuku pohybuje od 3,8 g do 5,3 g na 100 g hmyzu.

Tabulka 3: Obsah tuku v sušině jedlého hmyzu

Český název	Latinský název	Stádium	Obsah tuku (% v sušině)
Bourec morušový	<i>Bombyx mori</i>	kukla	29
Včela medonosná	<i>Apis mellifera</i>	plod	31
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	nymfa	13
Zavíječ voskový	<i>Galleria mellonella</i>	housenka	57
Cvrček stepní	<i>Gryllus assimilis</i>	nymfa	34
Potemník moučný	<i>Tenebrio molitor</i>	larva	36
Potemník brazilský	<i>Zophobas atratus</i>	larva	40

Zdroj: Bednářová, 2013

Tuk je v hmyzu přítomen v několika formách. Asi 80 % tvoří triacylglyceroly, které slouží jako zásoba energie pro období vysoké energetické náročnosti, například pro delší lety. Druhou nejvýznamnější formou jsou fosfolipidy, které mají úlohu ve struktuře buněčných membrán (Tzompa-Sosa et al., 2014). Obsah fosfolipidů v tuku je obvykle nižší než 20 %, ale mění se podle životní fáze a druhu hmyzu (Ekpo et al., 2009; Tzompa-Sosa et al., 2014).

Lipidy hmyzu mají poměrně vysoký obsah C18 mastných kyselin, včetně olejové, linolové a linolenové kyseliny (Tzompa-Sosa et al., 2014). Hojně je zastoupena i palmitová kyselina. Složení mastných kyselin hmyzu je ovlivněno potravou, kterou se hmyz živí (Bukkens, 2005).

Nejvíce zastoupeným steroidem v hmyzu je cholesterol. Ekpo a kol. (2009) studovali obsah cholesterolu v lipidech termitů *Macrotermes bellicosus* a housenkách *Imbrasia Belina*, které jsou běžně konzumovány v Nigérii. Zjistili, že průměrný obsah cholesterolu v hmyzu v lipidové frakci byl 3,6 %. Kromě cholesterolu mohou být v jedlém hmyzu přítomny i kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol a další steroly (Adámková, nepublikovaná data).

Vláknina

Jedlý hmyz obsahuje významné množství vlákniny. Nejčastější formou vlákniny v organismu hmyzu je nerozpustná vláknina chitin obsažená především v exoskeletu hmyzu (FAO, 2013). Množství chitinu v organismu hmyzu se dle jeho analýzy pohybuje v rozmezí od 2,7 do 49,8 mg na kilogram čerstvé hmotnosti hmyzu a v rozmezí 11 až 137 mg na kilogram sušiny. Chitin, je považován spíše za nestravitelnou vlákninu, třebaže enzym chitináza byl nalezen v lidských žaludečních šťávách (Paoletti et al., 2007). Bylo však zjištěno, že může být neaktivní. Aktivní reakce chitinázy v organismu převládá údajně spíše u obyvatel tropických zemí, kde je konzumace hmyzu jednou z dlouhodobých tradic (Muzzarelli et al., 2001).

Chitin je také spojován s obranou organismu proti parazitárním infekcím a některým alergickým stavům (Muzzarelli et al., 2001). Lee et al. (2008) uvádí, že chitin působí antivirově, proti vzniku nádorů. Chitin a jeho derivát chitosan mají vlastnosti, které by mohly zlepšit imunitní reakce specifických skupin lidí tím, že přimějí jedince k odolnosti proti patogenním bakteriím a virům. Zároveň existují náznaky toho, že chitin snižuje alergické reakce určitých jednotlivců (Goodman, 1989; Muzzarelli, 2010). Chitin z exoskeletu jedlého hmyzu působí v lidském organismu obdobně jako celulóza a pro tento účinek je mnohdy přezdíván „živočišnou vlákninou“ Borkovcová et al. (2009).

Bednářová (2013) analyzovala množství vlákniny v organismu 7 různých druhů jedlého hmyzu. Nejvíce vlákniny obsahovala saranče stěhovavá, nejméně pak cvrček stepní (Tabulka 4).

Tabulka 4: Obsah neutrálně-detergentní vlákniny (celulosa, hemicelulosa a lignin) v sušině jedlého hmyzu

Český název	Latinský název	Stádium	Obsah vlákniny (% v sušině)
Bourec morušový	<i>Bombyx mori</i>	kukla	14
Včela medonosná	<i>Apis mellifera</i>	plod	11
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	nymfa	27
Zavíječ voskový	<i>Galleria mellonella</i>	housenka	21
Cvrček stepní	<i>Gryllus assimilis</i>	nymfa	8
Potemník moučný	<i>Tenebrio molitor</i>	larva	18
Potemník brazilský	<i>Zophobas atratus</i>	larva	17

Zdroj: Bednářová, 2013

Minerální látky

Jedlý hmyz může být nutričně zajímavý i z hlediska obsahu minerálních látek jako jsou železo, zinek, draslík, sodík, vápník, fosfor, hořčík mangan a měď (FAO, 2013). Vysoký obsah železa mají například housenka *Mopane* (31 - 77 μg na 100 g sušiny) nebo kobylka *Locusta migratoria* (8 až 20 μg na 100 g sušiny) (Oonincx et al., 2010). Housenka *Mopane* by mohla být i dobrým zdrojem zinku (14 μg na 100 g sušiny), jakož i larvy nosatce palmového *Rhynchophorus phoenicis* (26,5 μg na 100 g sušiny) (Bukkens, 2005).

Vitaminy

Hmyz obsahuje celou řadu vitaminů, jako například A, D, E, K, C a vitaminy skupiny B (Finke, 2002; Finke, 2004; Xiaoming et al., 2008; Guerrini et al., 2009; Oonincx a Dierenfeld, 2011).

Bukkens (2005) uvádí celou řadu hmyzu, který obsahuje thiamin. Jeho rozmezí se v jedlém hmyzu pohybuje od 0,1 – 4 µg na 100 g sušiny. Riboflavin je zastoupený v jedlém hmyzu v množství 0,11 až 8,9 µg na 100 µg. Vitamin B12 se nalézá se v hojné míře v larvách moučného červa druhu *Tenebrio molitor* (0,47 µg na 100 g) a cvrčka domácího *Acheta domestica* (5,4 µg na 100 g u dospělých jedinců a 8,7 µg na 100 g u nymf). Nicméně mnoho dalších druhů, které byly doposud analyzovány, obsahuje pouze zanedbatelné množství tohoto vitamínu (Finke, 2002; Bukkens, 2005). Retinol a β-karoten byly zjištěny v některých housenkách motýlů, například u druhů *Imbrasia oyemensis*, *Nudaurelia oyemensis*, *Imbrasia truncata* a *Imbrasia epimethea*, které obsahují na 100 g sušiny 32 až 48 µg retinolu a 6,8 - 8,2 µg β-karotenu. U žlutých moučných červů druhu *Tenebrio molitor*, u tzv. „superčervů“ (*Zophobas morio*) a cvrčků domácích (*Acheta domestica*) byla úroveň retinolu na 100 g sušiny nižší než 20 µg a úroveň β-karotenu nižší než 100 µg (Finke, 2002; Bukkens, 2005; Oonincx a Poel, 2011). Vitamin E obsahují například larvy nosatce *Rhynchophorus ferrugineus*, které mají v průměru 35 µg α-tokoferolu a 9 µg tokoferolů β+γ na 100 g sušiny (Bukkens, 2005). U bource morušového *Bombyx mori* bylo stanoveno 9,65 µg tokoferolů na 100 g sušiny (Tong et al., 2011).

Senzorické vlastnosti jedlého hmyzu

Hmyz je v mnoha zemích světa konzumován živý bezprostředně po odchytu. V případě jeho dalšího zpracování je za nejhumánnější způsob usmrcení považováno spaření horkou vodou po předchozím půstu 1 - 3 dny (Borkovcová et al., 2009). Dalšími následnými kulinárními úpravami mohou být vaření, pečení, smažení, či sušení. Mezi tři nejčastější druhy hmyzu nabízené ve specializovaných obchodech, ve kterých je jedlý hmyz pěstován a zpracováván speciálně pro lidskou spotřebu patří larva žlutého moučného červa, menší larvy moučného červa a kobylka stěhovavá (Ramos-Elorduy, 1998; Borkovcová et al., 2009; FAO, 2013).

Senzorické vlastnosti jsou důležitým kritériem doprovázejícím konzumaci jedlého hmyzu. Chuť hmyzu je velice rozmanitá (Tabulka 5). Je dána především feromony vyskytujícími se na povrchu organismu hmyzu (Ramos-Elorduy, 1998). Závisí také na prostředí, ve kterém hmyz žije a na potravě, kterou se živí. Výběr potravy též může být uzpůsoben podle toho, jak si přejeme, aby hmyz chutnal. Pokud se hmyz opere či spaří, nemá prakticky žádnou vlastní chuť, jelikož feromony se opláchnutím smyjí. Během kulinářských úprav přebírá chuť přidávaných přísad. Vnější kostra hmyzu má velký vliv na texturu. Hmyz je křupavý a zvuky vyvolané jeho požíváním připomínají chroupání sušenek či preclíků (Ramos-Elorduy, 1998). Kukly, larvy (housenky) a nymfy jsou nejčastěji konzumovanými stádii jedlého hmyzu, jelikož obsahují minimální množství chitinu. Proto při rozměňování v ústech tolik nekřupou a jsou pro lidský organismus lépe stravitelné. Převážná část většiny druhů hmyzu je kvůli exoskeletu téměř bez vůně, takže hmyzí pach má vliv na chutnost jen minimální (Ramos-Elorduy, 1998). Hezká barva pokaždé nemusí znamenat lahodnost hmyzu. V průběhu tepelné úpravy se zbarvení hmyzu z původních odstínů šedé, modré, zelené či hnědé promění obvykle na červenou (Ramos-Elorduy, 1998). Hmyz, který obsahuje značné množství zoxidovaného tuku, či hmyz nesprávně sušený, mohou mít černou barvu. Správně usušený hmyz je zlatavý nebo hnědý a lze jej snadno rozmačkat v prstech (Borkovcová et al., 2009).

Rizika konzumace hmyzu

Konzumace hmyzu může znamenat i některá rizika, která je potřeba vzít v úvahu. Sběr hmyzu ve velkém ve volné přírodě by mohl znamenat vážný zásah do ekosystému krajiny. Proto je doporučováno, konzumovat hmyz faremně chovaný za kontrolovaných a definovaných podmínek. Výběrem vhodného a bezpečného krmiva je tak zajištěna následná zdravotní nezávadnost jedlého hmyzu. Výsledky rozborů prováděné v letech 2003 – 2010 ukázaly například možné nebezpečí konzumace hmyzu krmeného otrubami, ve kterých je vyšší koncentrace těžkých kovů (Bednářová et al., 2010). V žádném případě se nedoporučuje konzumovat hmyz krmený nevhodnou dietou například organickými odpady. Některé druhy hmyzu mohou obsahovat i přirozeně přítomné toxické látky jako například kyanogenní glykosidy (Zagrobleny et al., 2009).

Tabulka 5: Přehled chutí u vybraných druhů jedlého hmyzu

Jedlý hmyz	Chuť
mravenci, termiti	sladká, téměř oříšková
larvy potemníků	celozrnné pečivo
larvy dřevokazných brouků	tlustý bůček i s kůží
larvy vážek a jiného vodního hmyzu	ryby
švábi	houby
kněžice	jablka
vosy	piniová semínka
housenky šedavek	syrová kukuřice
červci	smažené brambory
vajíčka klešťanek	kaviár
housenky jezinek	sled'

Zdroj: Ramos-Elorduy, 1998

Dalšími možnými riziky konzumace jedlého hmyzu jsou konzumace nevhodného vývojového stádia hmyzu, špatná manipulace a kulinářská úprava. Bouvier (1945) například pozoroval, že konzumace kobylek a sarančat v celku bez odstranění nohou, může vést ke střevní zácpě, která může mít až fatální následky. Konzumace hmyzu může způsobovat i alergie. Hmyz má vnější kostru tvořenou chitinem, který je pro člověka těžko stravitelný. Dnes kvůli potravě neobsahující chitin dochází u lidí k úbytku tvorby enzymu, štěpícího chitin. Někteří lidé mají tohoto enzymu tak minimální množství, že u nich po konzumaci hmyzu může nastat alergická reakce. Nejvíce ohrožení jsou lidé, kteří trpí alergií na plody moře, jako jsou krevety (Bednářová et al., 2013).

Důležité je také zvážit riziko přenosu infekčních onemocnění z některých druhů hmyzu. Střevní mikrobiota hmyzu představuje zároveň vhodné médium pro růst nežádoucích mikroorganismů. Klunder et al. (2012) vyhodnotili mikrobiologický obsah čerstvého, zpracovaného, a skladovaného jedlého hmyzu *Tenebrio molitor*, *Acheta domesticus* a *Brachytrupes*. Výsledky ukázaly, že v čerstvém hmyzu mohou být zjištěny a posléze izolovány různé druhy bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* a i sporulující bakterie, které se do hmyzu s největší pravděpodobností dostávají při kontaktu s půdou (Reineke et al., 2012). Pokud není provedeno správné vyláčení, tepelné opracování a nejsou zajištěny vhodné podmínky skladování, může se jedlý hmyz stát z mikrobiologického hlediska nebezpečným (Giaccone, 2005; Klunder et al., 2012).

Závěr

Hmyz představuje nutričně zajímavou surovinu a může se v budoucnu začlenit i mezi běžné potraviny konzumované v zemích EU. Mohl by také složit jako nutriční suplement speciálních diet například pro sportovce. Zařazení jedlého hmyzu do běžného jídelníčku vyžaduje ale u potenciálně vhodných druhů definovat a standardizovat podmínky jejich chovu, provést monitoring složení včetně biologicky aktivních látek, analyzovat možná hygienicko-toxikologická rizika a následně implementovat jedlý hmyz jako potravinu do legislativy EU.

Literatura

- Bednářová, M., Borkovcová, M., Zorníková, G., Zeman, L. 2010. Insect as food in Czech Republic. MendelNet 2010, Mendel University in Brno, 674-682. Dostupné z: <https://mnet.mendelu.cz/mendelnet2010/articles/18_bednarova_372.pdf>
- Bednářová, M. 2013. Možnosti využití hmyzu jako potraviny v podmínkách České republiky. Disertační práce. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta. Brno. 131 s.
- Borkovcová, M., Bednářová, M., Fišer, V., Ocknecht, P. 2009. Kuchyně hmyzem zpestřená 1. Lynx. Brno. 135 s. ISBN 978-80-86787-37-4.
- Bouvier, G. 1945. Quelques questions d'entomologie vétérinaire et lutte contre certains arthropodes en Afrique tropicale. Acta Tropica, 2: 42-59.

- Bukkens, S. G. F. 2005. Insects in the human diet: nutritional aspects. In Paoletti, M. G. (Ed.), Ecological implications of minilivestock; role of rodents, frogs, snails, and insects for sustainable development. New Hampshire. Science Publishers. 545–577.
- Cerritos, R.; Cano-Santana, Z., 2008. Harvesting grasshoppers *Sphenarium purpurascens* in Mexico for human consumption: A comparison with insecticidal control for managing pest outbreaks. *Crop Protection*, 27: 473-480.
- Cerritos, R. 2009. Insects as food: an ecological, social and economical approach. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 4(27): 1-10.
- Dreon, A. L., Paoletti, M. G. 2009. The Wild Food (Plants AndInsects) in Western Friuli Local Knowledge (Friuli Venezia Giu-lia, North-Eastern Italy). *Contributions to the Natural History* 12: 461-488.
- Ekpo, K. E., Onigbinde, A. O., Asia, I. O. 2009. Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3: 51-57.
- FAO. 2013. Edible insects: Future prospects for food and feed security. FAO, Rome, 187 p. ISBN 978-92-5-107595-1 [cit 2014-12-30]. Dostupné z: <<http://www.fao.org/docrep/018/i3253e/i3253e.pdf>>.
- Finke, M. D. 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21: 269–285.
- Finke, M. D. 2004. Nutrient Content of Insects. In: Capinera J. L. (Ed.), *Encyclopedia of Entomology*, Kluwer Academic, Dordrecht, London, 1562-1575.
- Finke, M. D. 2007. Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biology*. 26: 105–115.
- Giaccone, V. 2005. Hygiene and health features of “minilivestock”. In Paoletti, M. G. (Ed.), Ecological implications of minilivestock; role of rodents, frogs, snails, and insects for sustainable development. New Hampshire. Science Publishers. 579–598.
- Godfray, H. C. J., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Nisbett, N., et al. 2010. The future of the global food system. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 365: 2769-2777.
- Goodman, W.G. 1989. Chitin: A magic bullet? *The Food Insects Newsletter*, 2: 6–7.
- Guerrini, A., Bruni, R., Maietti, S., Poli, F., Rossi, D., Paganetto, G., Muzzoli, M., Scalvenzi, L., Sacchetti, G. 2009. Ecuadorian stingless bee (*Meliponinae*) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. *Food Chemistry*, 114: 1413–1420.
- Kinyuru, J. N., Konyole, S. O., Roos, N., Onyango, Ch. A., Owino, V. O., Owuor B. O., Estambale, B. B., Friis, H., Aagaard-Hansen, J., Kenji, G. M. 2013. Nutrient composition of four species of winged termites consumed in western Kenya. *Journal of Food Composition and Analysis* 30: 120-124.
- Klunder, H. C., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J. M., Nout, M. J. R. 2012. Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*. 26: 628–631.
- Lee, K. P., Simpson, S. J., Wilson, K. 2008. Dietary protein-quality influences melanization and immune function in an insect. *Functional Ecology*. 22: 1052–1061.
- Lesnik, J. J. 2014. Termites in the hominin diet: A meta-analysis of termite genera, species and castes as a dietary supplement for South African robust australopithecines. *Journal of Human Evolution* 71: 94-104.
- Meyer-Rochow, V. B., 2009. Food taboos: Their origins and purposes. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5: 1-10.
- Muzzarelli, R. A. A., Terbojevich, M., Muzzarelli, C., Miliani, M., Francescangeli, O. 2001. Partial depolymerization of chitosan with the aid of papain. In Muzzarelli, R. A. A. ed. *Chitin Enzymology*. Italy. Atec. 405–414.
- Muzzarelli, R. A. A. 2010. Chitins and chitosans as immunoadjuvants and non-allergenic drug carriers. *Marine Drugs*, 8: 292-312.

- Oonincx D. G. A. B., van Itterbeeck J., Heetkamp M. J. W., van den Brand H., van Loon J. J. A., van Huis A. 2010. An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PLoS ONE* 5(12): e14445. doi:10.1371/journal.pone.0014445. Dostupné z: <
http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0014445>
- Oonincx, D. G. A. B., van der Poel, A. F. B. 2011. Effects of diet on the chemical composition of migratory locusts (*Locusta migratoria*). *Zoo Biology*, 30: 9–16.
- Oonincx, D. G. A. B., Dierenfeld, E. S., 2011. An investigation into the chemical composition of alternative invertebrate prey. *Zoo Biology*, 29: 1-15.
- Paoletti, M. G., Norberto, L., Damini, R., Musumeci, S. 2007. Human gastric juice contains chitinase that can degrade chitin. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 51: 244–251.
- Ramos-Elorduy, J., Pino, J. M., Prado, E. E., Perez, M. A., Otero, J. L., de Guevara, O. L. 1997. Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis*. 10: 142–157.
- Ramos-Elorduy, J. 1998. Hmyz na talíři: Labužníkův průvodce po světě jedlého hmyzu. Volvox Globator, Praha, 126 s. ISBN 80-7207-193-9.
- Reineke, K., Doehner, I., Schlumbach, K., Baier, D., Mathys, A., Knorr, D. 2012. The different pathways of spore germination and inactivation in dependence of pressure and temperature. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13: 31–41.
- Rumpold, B. A., Schlüter, O. K. 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research*. 57: 802-823.
- Sogbesan, A., Ugwumba, A. 2008. Nutritional evaluation of termite (*Macrotermes subhyalinus*) meal as animal protein supplements in the diets of *Heterobranchius longifilis*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 8: 149–157.
- Sponheimer, M., Lee-Thorp, J. A., 1999. Oxygen isotopes in enamel carbonate and their ecological significance. *Journal of Archaeological Science*, 26: 723-728.
- Sponheimer, M., De Ruiter D., Lee-Thorp J., Späth A., 2005. Sr/Ca and early hominin diets revisited: New data from modern and fossil tooth enamel. *Journal of Human Evolution*, 48: 147-156.
- Tong, L., Yu, X., Lui, H. 2011. Insect food for astronauts: gas exchange in silkworms fed on mulberry and lettuce and the nutritional value of these insects for human consumption during deep space flights. *Bulletin of Entomological Research*, 101: 613–622.
- Tzompa-Sosa, D. A., Liya Yi, Hein J. F. van Valenberg, Martinus A. J. S. van Boekel, Catriona M. M. Lakemond 2014. Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Research International* 62: 1087-1094.
- van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annual Review of Entomology*, 58: 563-583.
- van Huis, A., van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P. 2013. Edible insects: future prospects for food and feed security. Food and Agriculture Organization of the United Nations. ISSN 0258-6150.
- Xiaoming, Ch., Ying, F., Hong, Z., Zhiyong, Ch. 2008. Review of the nutritive value of edible insects. Edible insects and other invertebrates in Australia: future prospects. 65-84. In: Durst, P. B., Johnson, D. V., Leslie, R. N., Shono, K. 2008. Forest insects as food: humans bite back. Proceedings of a workshop on Asia-Pacific resources and their potential for development. Thailand. Chiang Mai. 19th - 21st February 2008. 231 p.
- Xiaoming, Ch., Ying, F., Hong, Z., Zhiyong, Ch. 2010. Review of the nutritive value of edible insects. In: Durst, P. B., Johnson, D. V., Leslie, R. L., Shono, K. Forest insects as food: humans bite back. Proceedings of a workshop on Asia-Pacific resources and their potential for development. Bangkok. FAO Regional Office for Asia and the Pacific.
- Zagobelny, M., Dreon, A. L., Gomiero, T., Marcazzan, G. L., Glaring, M. A., Moller, B. L., Paoletti, M. G. 2009. Toxic moths: source of a truly safe delicacy. *Journal of Ethnobiology*, 29: 64-76.

R 6**VODA V POTRAVINÁCH**

Pokora J., Schulzová M.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce, ústřední inspektorát Brno

O významu vody pro život a zdraví člověka není nutné se široce rozepisovat. Voda je základním médiem na Zemi, ve kterém probíhají biochemické reakce. Zdrojem vody, kromě vody samé, jsou ale také potraviny. V potravinách je její výskyt přirozený, daný původem suroviny nebo použitou technologií. V mnoha případech se lze ale také setkat s výskytem vody v potravinách, která do potravin byla dodána za účelem obohacení výrobce nebo obchodníka na úkor spotřebitelů. V takových situacích lze již hovořit o falšování potravin a v některých případech taková situace může mít vliv i na bezpečnost potravin.

R 7**KOMPLEXNÍ ZHODNOCENÍ KVALITY A CHEMICKÉ BEZPEČNOSTI KÁVY**

Slavíková P., Vytečková S., Jířů M., Bělková B., Zachariášová M., Kocourek V., Hajšlová J.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Úvod:

Jedním z nejpopulárnějších nealkoholických nápojů spotřebovávaných denně miliony lidí po celém světě je káva. Jedná se o velice komplexní matici zahrnující pestrou škálu sloučenin s různými účinky na lidský organismus. Řada vědeckých studií již prokázala jak její ochranný potenciál vůči řadě stále čteněji se vyskytujících civilizačních chorob, tak i případná zdravotní rizika.¹

Nejlépe popsanou a prozkoumanou účinnou látkou kávy s významnou biologickou aktivitou je kofein, xantinový alkaloid s psychotropním efektem vyvolávající řadu odlišných odezev u jednotlivých konzumentů v závislosti na citlivosti jedince. Obsah kofeinu v kávě může být důležitým ukazatelem kvality vstupní suroviny, a to díky prokázaným vyšším hladinám kofeinu v méně kvalitní kávě typu robusta v porovnání s kvalitnějším typem arabika. Kromě kofeinu je káva také bohatým zdrojem látek s antioxidační aktivitou, především polyfenolů, chránící organismus před účinkem volných radikálů. Nejzastoupenější skupinou polyfenolů v kávě jsou kyseliny chlorogenové neboli isomery caffeoylchinové kyseliny, ovšem jejich obsah v průběhu výrobní technologie kávy může výrazně klesnout v závislosti na stupni jejího upražení.^{1,2}

Stejně jako většině potravinářských komodit i této hrozí riziko kontaminace škodlivými látkami. V případě kávy se může jednat jak o kontaminanty primární z vnějších zdrojů, tak i o kontaminanty sekundární vznikající přímo v průběhu zpracování suroviny. Relevantními zástupci první skupiny jsou mykotoxiny, konkrétně ochratoxin A (OTA), sekundární toxický metabolit mikroskopických vláknitých hub rodů *Aspergillus* a *Penicillium*, jehož přítomnost ve výsledném produktu poukazuje na použití zaplísňené vstupní suroviny nebo špatnou výrobní praxi. Maximální hladiny OTA jsou v EU regulovány nařízením Komise č. 1881/2006, kde je stanoveno 5 µg/kg pro praženou kávu a 10 µg/kg pro kávu instantní. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) pro OTA stanovil také tolerovatelný týdenní příjem (TWI) 120 ng/kg tělesné hmotnosti. Rovněž je prokázáno, že OTA vykazuje renální toxicitu a genotoxicitu, proto je Mezinárodní organizací pro výzkum rakoviny (IARC) zařazen do skupiny 2B, tj. potencionální lidský karcinogen. U skupiny druhé se jedná pak zejména o procesní kontaminanty furan a akrylamid vznikající reakcemi redukujících sacharidů, aminokyselin či polynenasycených mastných kyselin v průběhu pražení za vysokých teplot. Oba kontaminanty jsou zařazeny IARC do skupiny 2, konkrétně furan do sk. 2B stejně jako OTA a akrylamid do sk. 2A, tj. pravděpodobný lidský karcinogen. Pro furan zatím nejsou stanoveny žádné maximální limity, pro akrylamid jsou pouze doporučeny v doporučení Komise ze dne 10. 1. 2011 tzv. „směrné hodnoty“, a to pro kávu praženou 450 µg/kg a pro kávu instantní 900 µg/kg.^{3,4,5}

Cíl studie:

Cílem prezentovaného projektu je komplexní zhodnocení kvality kávy dostupné na českém trhu, která odráží jak vliv správné výrobní technologie, tak kvalitu vstupní suroviny. Hodnocení je obsah látek s příznivými účinky na lidský organismus, tedy kofein a látek s antioxidační aktivitou, ale i látek s možným negativním dopadem na lidský organismus, tedy ochratoxinu A, furan a akrylamid.

Vzorky:

Soubor vzorků pro analýzu čítá 12 mletých pražených káv v kávových patronách a 14 vzorků káv instantních (n=26). Vzorky byly zakoupeny na českém maloobchodním trhu na přelomu roku 2014 a 2015 a analyzovány s využitím kombinací chromatografických technik (kapalinová/plynová, LC/GC) ve spojení s hmotnostně-spektrometrickou detekcí (MS) a spektrofotometrického stanovení antioxidačních aktivit.

Spotřební materiál, chemikálie, zařízení, standardy:Spotřební materiál:

běžné laboratorní sklo a vybavení, Simax, Labicom, Merci (ČR), plastové (PTFE) odměrné baňky, skleněné vialky s konickým dnem, víčka, septa, skleněné lahvičky o objemu 10 ml s magnetickými víčky a septa (Seal, 20 mm Metal Lg. Opening Varian, USA), plynotěsné skleněné stříkačky 10, 50, 100, 250, 500, 1000 µl (SGE, Austrálie), plastové (PTFE) kyvety, mikrofiltry 0,2 µm, Alltech (USA)

Chemikálie:

deionizovaná voda Milli-Q, Millipore Corp. (USA), etanol Merck (USA), aceton p.a. Lachema Brno, (ČR), hydrogenuhličitan sodný, Lach-Ner (ČR), chlorid sodný p.a. Penta Chrudim (ČR), technické plyny: dusík 5.0, dusík 4.0, Linde Technoplyn (ČR), [metanol, LC-MS ultra chromasolv[®], acetonitril, HPLC gradient, mravenčan amonný 99%, kyselina mravenčí 99%, kyselina octová 99,99%, fosfátový pufr (PBS) v tabletách, difenylpikrylhydrazyl (DPPH), Folin-Ciocalteuovo činidlo, chlorid hlinitý, quercetin, síran hořečnatý p.a., oxid hlinitý] vše od Sigma Aldrich (USA)

Zařízení:

IAC imunoafinitní kolony OCHRAPREP[®], R-Biopharm (Německo), vlákno pro automatizovanou SPME-fáze polydimethylsiloxan/karboxen/divinylbenzen (30/50 µm, PDMS/CX/DVB) Supelco (USA), automatická mikropipeta, 0,5-5 ml, TreffLab (Švýcarsko), automatické mikropipety 20-200 µl, 100-1000 µl, 1-5 ml, 1-10 ml Biohit (Německo), homogenizátor, střížný mlýnek Grindomix GM200, Retsch (Německo), homogenizátor, mlýnek na kávu Tristar KM-2270, elektronické váhy, model HF-1200G, A&D Instruments LTD (Japonsko), rotační vakuová odparka Büchi Rotavapor R 114, 200 s vodní lázní Waterbath B-480, B-490 (Švýcarsko)

Standardy:

analytický standard ochratoxinu A (99,5%), Biopure (Rakousko), standard kofeinu (99,0 %) Sigma Aldrich – Fluka (USA), standard furanu (99,0 %) Sigma Aldrich (Německo), standard akrylamidu (99,5 %) Sigma Aldrich (Německo), izotopově značený standard akrylamidu ¹³C₃ (99,0 %) Cambridge Isotope laboratories (USA)

Instrumentace:

- ultra-účinný kapalinový chromatograf UltiMate[®] 3000 RSLC ve spojení s vysokorozlišovacím tandemovým hmotnostním spektrometrem Q-Exactive, (obojí Thermo Scientific, USA) → **stanovení kofeinu**
- Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek, USA) → **stanovení látek s antioxidační aktivitou**
- ultra-účinný kapalinový chromatograf ACQUITY UPLC[™] System (Waters Corp., USA) ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem QTRAP[®] 5500, Sciex (USA) → **stanovení ochratoxinu A**
- vlákno pro automatizovanou SPME (Supelco, USA), plynový chromatograf TRACE GC 2000 (Thermo Quest, USA) ve spojení s hmotnostním spektrometrem typu iontová past Polaris Q (Finnigan, USA) → **stanovení furanu**
- vysokoúčinný kapalinový chromatograf Alliance 2695 ve spojení s hmotnostním spektrometrem Quattro Premier XE (Waters Corp., USA) → **stanovení akrylamidu**

Úprava vzorků:**1. stanovení kofeinu v kávě**

1 g homogenizovaného vzorku je navážen do erlenmayerovy baňky a extrahován 100 ml vroucí deionizované vody. Takto připravený vzorek je protřepán, uzavřen a ponechán vychladnout. Alikvótní podíl vzorku (cca. 50 ml nálevu) je přelit do 50 ml centrifugační kyvety a odstředěn (5 min., 10 000 RPM, 20 °C). Následně je alikvótní podíl 0,5 ml nálevu přečištěn přes mikrofiltr (0,2 µm) odstředěn (1 min., 8 000 otáček.min⁻¹) a v postupných

krocích naředěn 10x, 100x a 1 000x deionizovanou vodou. Analýza výsledného 1 000x naředěného vzorku je provedena na instrumentaci U-HPLC-HRMS/MS.

2. stanovení antioxidační aktivity v kávě

a) metoda DPPH

3,5 g homogenizovaného vzorku je extrahováno 25 ml horké vody (95 °C). Po vychladnutí je extrakt odstředěn, alikvótní podíl odebrán do kyvety, naředěn 100x deionizovanou vodou a použit ihned k měření. Do jamky mikrotitrační destičky (vzorek) je napipetováno 100 µl výše zmíněného naředěného extraktu a k němu přidáno 200 µl DPPH. Do kontrolní jamky (kontrola) je napipetováno 100 µl extrakčního rozpouštědla (deionizovaná voda) a 200 µl DPPH. Jelikož extrakty kávy absorbují i samy o sobě, je nutné od absorpance vzorku odečíst blanky (100 µl extraktu + 200 µl metanolu). Inkubace probíhá ve tmě po dobu 15 minut, absorpance je měřena na spektrofotometru při vlnové délce 517 nm.

b) stanovení celkových polyfenolů v kávě

3,5 g homogenizovaného vzorku je extrahováno 25 ml horké vody (95 °C). Po vychladnutí je extrakt odstředěn, alikvótní podíl odebrán do kyvety, naředěn 10x deionizovanou vodou a použit ihned k měření. Do jamky mikrotitrační destičky je napipetováno 15 µl 10x naředěného extraktu a 165 µl Folin-Ciocalteuova činidla naředěného vodou (1/9, v/v). Po třech minutách je ke směsi přidáno 60 µl uhličitanu sodného a 80 µl deionizované vody. Inkubace probíhá 60 minut za pokojové teploty, absorpance je měřena na spektrofotometru při vlnové délce 725 nm.

3. stanovení ochratoxinu A v kávě

5 g homogenizovaného vzorku je naváženo do erlenmayerovy baňky a zalito 200 ml 1% roztoku hydrogenuhličitanu sodného ve vodě. Následuje 60-ti minutové třepání, 10-ti minutové odstředění extraktu při 10 000 otáčkách za minutu a odběr alikvótního podílu 20 ml supernatantu. Ten je následně zředěn 20-ti ml pufru PBS a nanesen na kondicionovanou imunoafinitní kolonku OCHRAPREP® (průtok 2 ml/min.). Poté je nutné kolonku promýt dalšími 20-ti ml PBS (průtok 5 ml/min.) a na závěr přes ni propustit několik ml vzduchu. OTA navázaný v kolonce je eluován 3 ml směsí metanol:kyselina octová (98:2, v/v) a 1,5 ml deionizované vody. Získaný eluát je odpařen do sucha, odparek rozpuštěn v 1 ml směsí metanol:voda (1:1, v/v), přečištěn pomocí mikrofiltru (0,2 µm) a analyzován s využitím U-HPLC-MS/MS.

4. stanovení furanu v kávě

0,5 g homogenizovaného vychlazeného vzorku je naváženo do vychlazené 10 ml lahvičky obsahujícího 2 ml nasyceného roztoku NaCl. Lahvička je uzavřena a přes septum je proveden standardní přídavek standardu furanu na vhodnou hladinu, která je odhadnuta po předběžné analýze vzorku. Vzorek je analyzován s využitím SPME-GC-MS.

5. stanovení akrylamidu v kávě

2 g homogenizovaného vzorku jsou zality 10 ml hexanu a po dobu jedné minuty intenzivně třepány. Dále je přidáno 20 ml deionizované vody, izotopově značený standard akrylamidu na odpovídající hladině a koncentraci, dle předběžné analýzy vzorku a vzorek je opět 1 minutu třepán s následným odstředěním při 10 000 ot./min. Alikvótní podíl 10 ml vodné fáze je odebrán a smíchán v 50 ml centrifugační kyvetě s 10 ml acetonitrilu s již naváženými 4 g MgSO₄ a 0,5 g NaCl a opět 1 minutu třepán a centrifugován při 10 000 ot./min. Z horní acetonitrilové je odebrán alikvótní podíl 3 ml, přečištěn předem naváženými sorbenty 450 mg MgSO₄ a 230 mg bazického Al₂O₃, třepán 1 minutu a odstředěn při 10 000 ot./min. 1,5 ml supernatantu je následně převedeno do 2 ml skleněné vialky, acetonitril je odfoukán mírným proudem dusíku na objem cca 0,1 ml a vialka je doplněna deionizovanou vodou na původní objem 1,5 ml. Následně je vzorek analyzován s využitím HPLC-MS.

Instrumentální analýza:

Souhrny chromatografických a hmotnostně-spektrometrických podmínek pro stanovení kofeinu, ochratoxinu A, furanu a akrylamidu jsou uvedeny v **tabulkách I., II., III., IV., V., VI., VII., a VIII.**

Tab. I Podmínky kapalinové chromatografie pro stanovení kofeinu

Systém	UltiMate® 3000 RSLC (Thermo Fisher)	
Kolona	Accucore™aQ (150 x 2.1 mm, 2.6 µm; ThermoFisherScientific, USA)	
Teplota kolony	25 °C	
Objem nástřiku	2 µl	
Mobilní fáze	pozitivní mód ESI+	A: H ₂ O:MeOH (90:10) B: MeOH:H ₂ O (98:2)
Délka metody	11 min	

Tab. II Hmotnostně-spektrometrické podmínky analýzy kofeinu

Hmotnostní spektrometr	Q-Exactive (Thermo Scientific)
Ionizace	ESI +
Nosný/pomocný plyn (N ₂)	32/7 arb.j.
Teplota kapiláry	300°C
Vypařovací teplota	220°C
Napětí na elektrospreji	+ 3,3 kV
S-lens hodnota	60
Podmínky akvizičního módu <i>full MS</i>	
Rozlišení	70 000 FWHM (<i>High</i>); 1,5 Hz
Hmotnostní rozsah <i>m/z</i>	50-300
Vyhodnocovací software	Xcalibur™ (Thermo Fisher Scientific)

Tab. III Podmínky kapalinové chromatografie pro stanovení ochratoxinu A

Systém	ACQUITY UPLC® System (Waters)	
Kolona	Kinetex™ C18 (100 mm x 2,1 mm; 2,6 µm), Phenomenex (USA)	
Teplota kolony	40 °C	
Objem nástřiku	10 µl	
Mobilní fáze	pozitivní mód ESI+	A: 5 mM maravenčan amonný v H ₂ O B: MeOH obě m.f. okyselené 0,2% HCOOH
Délka metody	12 min	

Tab. IV Hmotnostně-spektrometrické podmínky analýzy ochratoxinu A

Hmotnostní spektrometr	QTRAP® 5500 (Sciex)
Ionizace	ESI+
Detekční mód	MRM
MRM detekce	60 s
Napětí na elektrospreji	+ 4,5 kV
Teplota zdroje	600 °C
Vyhodnocovací software	Analyst® software 1.1 (Sciex)

Tab. V Podmínky plynové chromatografie pro stanovení furanu

Systém	TRACE GC 2000 (Thermo Quest)
Kolona	a) VOCOL (60 m x 0,32 mm, 3 µm) b) VOCOL (30 m x 0,32 mm, 1,8 µm)
Teplota nástřiku	220 °C
Nástřik	PTV injektor, technika splitless
Použitý liner	skleněný, vnitřní průměr 2 mm
Splitless perioda	1 min
Zanoření vlákna do injektoru	57 mm
Teplotní program	kolona a) 45 °C po dobu 1 min., 5 °C/min do 100 °C (bez zádrže), 60 °C/min do 220 °C, zádrž po dobu 11 min (Σ 25 min) kolona b) 45 °C po dobu 1 min, 0,5 °C/min do 50 °C (bez zádrže), 80 °C/min do 220 °C, zádrž po dobu 6,87 min (Σ 20 min)
Nosný plyn, průtok	helium, konstantní, 1 ml/min
Teplota interface	220 °C
Teplota iontového zdroje	200 °C

Tab. VI Hmotnostně-spektrometrické podmínky analýzy furanu

Hmotnostní spektrometr	Polaris Q (Finnigan)
Detekční mód	SegmentScan
Vyhodnocovací software	Xcalibur™ (Thermo Fisher Scientific)

Tab. VII Podmínky kapalinové chromatografie pro stanovení akrylamidu

Systém	Alliance 2695 (Waters)	
Kolona	Atlantis® T3 3 µm, 150 x 3 mm (Waters, USA)	
Teplota kolony	35 °C	
Teplota autosampleru	10 °C	
Objem nástřiku	20 µl	
Mobilní fáze	pozitivní mód ESI+	3 % acetonitril, 97 % H ₂ O
Průtok-standard	0,3 ml/min 0-6 min	
Průtok-vzorek	0,3 ml/min 0-5 min, 0,5 ml/min 5-9 min	
Délka metody-standard	6 min	
Délka metody-vzorek	9 min	

Tab. VIII Hmotnostně-spektrometrické podmínky analýzy akrylamidu

Hmotnostní spektrometr	Quattro Premier XE (Waters Corp.)
Ionizace	ESI +
Desolvatační plyn	dusík (700 l/h)
Konový plyn	dusík (100 l/h)
Kolizní plyn	argon (0,5 ml/min, 9,78x10 ⁻³)
Teplota zdroje	120 °C
Desolvatační teplota	450 °C
Napětí na elektrospreji	+ 4,5 kV
Napětí na kóně	21 V
Vyhodnocovací software	MassLynx™ software 4.1 (Waters)

Výsledky a diskuze:

1. Zhodnocení obsahu kofeinu v souboru 12 mletých pražených káv v kávových kapslích a 14 instantních káv

Obsah kofeinu v pražené kávě v kávových patronách (viz **Obr. 1**) nabýval hodnot od 11 do 23 mg/g kávy, tzn. v průměru 18 ± 4 mg/g kávy. U káv instantních (viz **Obr. 2**) se tyto hodnoty pohybovaly v rozpětí 22 – 43 mg/g kávy, tzn. v průměru 33 ± 16 mg/g kávy. Vyšší obsah kofeinu v instantních kávách je pochopitelný v důsledku výrobní technologie daného typu kávy, kdy dochází k přibližně 2-3 násobnému zakoncentrování silného výluhu pražené mleté kávy.

U káv pražených v kávových patronách a pražených káv obecně je většinou na etiketách obalů uvedeno složení dané kávy, tedy zda se jedná o kvalitnější a chutnější typ kávy čistou arabiku nebo robustu, hodnocenou spotřebiteli, pěstiteli i výrobcí jako méně kvalitní typ kávy či směs obou typů v různém procentuálním zastoupení. Na obalech instantních káv většinou tato informace uvedena není. Z obsahu kofeinu ovšem můžeme částečně usuzovat, o jaký typ kávy se jedná, viz **úvod**. V této studii bylo zkoumáno 7 mletých pražených káv v kávových kapslích s označením 100 % arabika (č. 1539-1544, 1550), které obsahovaly průměrně 17 mg kofeinu na g kávy a 5 vzorků směsí arabika a robusta (č. 1545-1549) obsahující průměrně 21 mg kofeinu na g kávy.

2. Zhodnocení antioxidační aktivity a množství celkových polyfenolů v souboru 12 mletých pražených káv v kávových kapslích

Káva patří vedle řady jiných potravin, jako je ovoce, zelenina či cereálie, k dalším možným zdrojům látek vykazujícím antioxidační účinky. To bylo prokázáno i v rámci této studie, kdy byla změřena celková antioxidační aktivita pražené kávy pomocí metody DPPH na hladině v průměru 65 mg AAE (=ekvivalent kyseliny askorbové) na 30 ml kávy odpovídající 1 šálku (rozsah 38 – 70 mg AAE/30 ml). Dále byl také změřen obsah polyfenolů, a to v průměru 55 mg/30 ml kávy (rozsah 33 – 68 mg/30 ml). Viz **Obr. 3 a 4**. U káv instantních antioxidační aktivita hodnocena nebyla. Nicméně, dle předchozích studií realizovaných na Ústavu analýzy potravin a výživy VŠCHT Praha⁶ lze říci, že v porovnání s mletými kávami je celková antioxidační aktivita nižší.

3. Zhodnocení úrovně kontaminace ochratoxinem A v souboru 12 mletých pražených káv v kávových kapslích a 14 instantních káv

Z celkového počtu 12 mletých pražených káv byl ochratoxin A detekován ve 4 vzorcích (viz **Obr. 5**), tedy 33 % souboru, a to v rozsahu 0,5 – 0,9 µg/kg kávy. Průměrná koncentrace u pozitivních vzorků byla $0,7 \pm 0,3$ µg/kg kávy. Jednalo se o velmi nízké a velmi podobné stopové nálezy, které se ani v nejmenším nepřiblížily k danému legislativnímu maximálnímu limitu pro praženou kávu 5 µg/kg kávy. U vzorku s nejvyšším nálezem 0,9 µg/kg kávy č. 1549 by byl tento maximální limit vyčerpán z 18 %. V případě káv instantních byl ochratoxin A detekován u všech 14-ti vzorků (viz **Obr. 6**), tedy 100 % souboru, a to v rozsahu 1,2 – 4,1 µg/kg kávy. Průměrná koncentrace byla $2,6 \pm 1,2$ µg/kg kávy. Ani u instantních káv nebyl u žádného vzorku překročen maximální limit pro instantní kávy 10 µg/kg kávy. Nejvyšší koncentrace byla zaznamenána u vzorku č. 265 s hodnotou nálezu 4,1 µg/kg kávy. U tohoto vzorku by byl maximální limit vyčerpán ze 41 %. Celkově se dá říci, že vyšší nálezy OTA byly detekovány u instantních káv, což pravděpodobně souvisí s výrobní technologií daného typu kávy, kdy dochází k přibližně 2-3 násobnému zakoncentrování silného výluhu pražené mleté kávy.

4. Zhodnocení úrovně kontaminace furanem v souboru 12 mletých pražených káv v kávových kapslích a 14 instantních káv

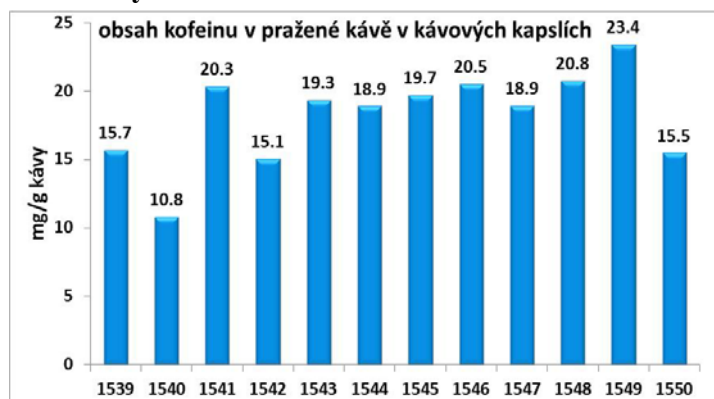
Procesní kontaminant furan byl detekován ve všech vzorcích mletých pražených i instantních káv (viz **Obr. 7 a 8**). Rozsah koncentračních hladin se pohyboval u mletých pražených káv od 1561 do 4620 µg/kg kávy, tzn. v průměru $2\,447 \pm 694$ µg/kg kávy. U káv instantních nálezy nabývaly hodnot 70 – 622 µg/kg kávy, tedy v průměru 266 ± 105 µg/kg kávy. Nejvyšší koncentrace furanu byly nalezeny ve vzorcích č. 1541 (4620 µg/kg kávy)

u pražené kávy a č. 262 (622 µg/kg kávy) u káv instantních. Pro furan zatím nejsou stanovena žádná legislativní opatření, ke kterým by bylo možné výsledky vztáhnout. Závěrem vyplývajícím z této části studie jsou výrazně vyšší nálezy furanu v pražených kávách v porovnání s kávami instantními. Tento výsledek je opět důsledkem výrobní technologie instantní kávy a vysoké míry těkavosti furanu, který v jejím průběhu vytěká.

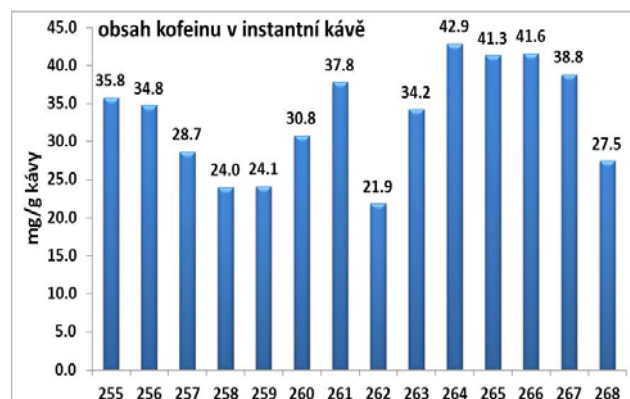
5. Zhodnocení úrovně kontaminace akrylamidem v souboru 12 mletých pražených káv v kávových kapslích a 14 instantních káv

Také v případě procesního kontaminantu akrylamidu obsahovaly veškeré vzorky pražených a instantních káv tento analyt v kvantifikovatelném množství (viz **Obr. 9 a10**). Pražené mleté kávy v kávových kapslích obsahovaly koncentrace 101 – 232 µg/kg (nejvyšší nález-vzorek č. 1543), instantní kávy obsahovaly 275 – 837 µg/kg (nejvyšší nález-vzorek č. 259). Průměrná koncentrace byla u pražených káv 178 ± 73 µg/kg kávy a u káv instantních 591 ± 206 µg/kg kávy. Doporučené směrné hodnoty nebyly ani u pražených káv (450 µg/kg kávy) ani u káv instantních (900 µg/kg kávy) překročeny. Ovšem u nejvíce kontaminovaných vzorků by byly tyto hodnoty vyčerpány z 52 % u pražené mleté kávy a z 93 % u instantní kávy. Na rozdíl od furanu je úroveň kontaminace akrylamidem, v rámci úzkého souboru analyzovaných vzorků nakoupených k tomuto experimentu, vyšší u vzorků káv instantních než u káv mletých pražených. Tato skutečnost může vyplývat z výrobní technologie instantní kávy, kdy dochází k extrakci látek z pražené kávy za vysoké teploty 175 °C a případnému sušení ve vyhřívaných systémech při 200-300 °C. Tyto vysoké teploty pak představují ideální podmínky k dalšímu nárůstu obsahu akrylamidu v instantní kávě z dostupných prekurzorů, ke kterému dochází již při teplotách vyšších než 120 °C. Kromě toho, instantní káva je silným koncentrátem pražené kávy, což může být také důvodem těchto vyšších hladin.

Přílohy:



Obr. 1 Obsah kofeinu v mleté pražené kávě v kávových kapslích; navážka kávy v kávových kapslích k přípravě 1 šálku (5-8 g)



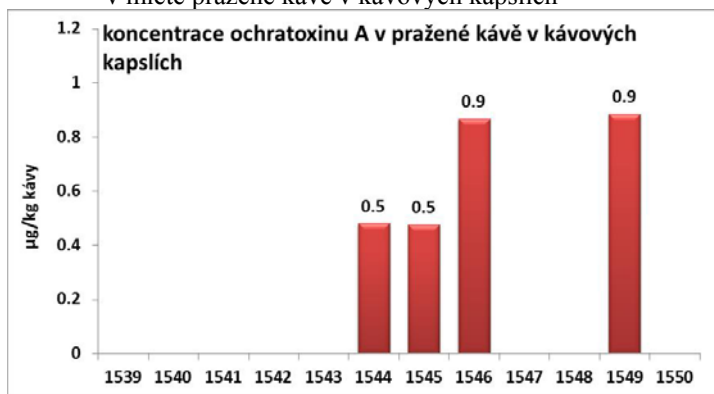
Obr. 2 Obsah kofeinu v instantní kávě navážka instantní kávy k přípravě 1 šálku cca 2 g



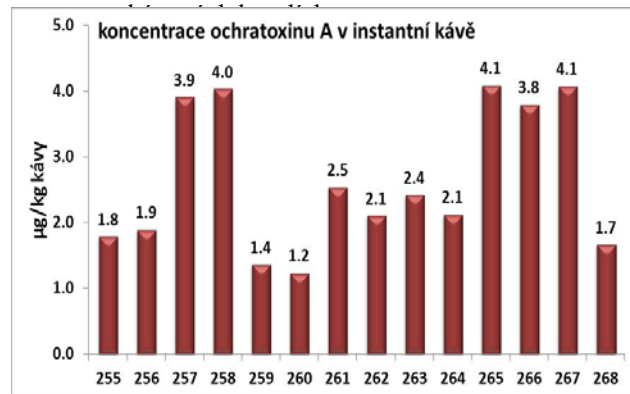
Obr. 3 Celková antioxidační aktivita biologicky aktivních látek v mleté pražené kávě v kávových kapslích



Obr. 4 celkový obsah polyfenolů v pražené kávě



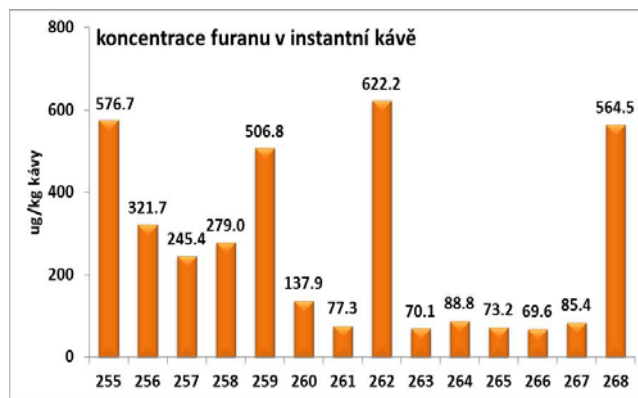
Obr. 5 Koncentrace ochratoxinu A v mleté pražené kávě v kávových kapslích (maximální legislativní limit 5 µg/kg)



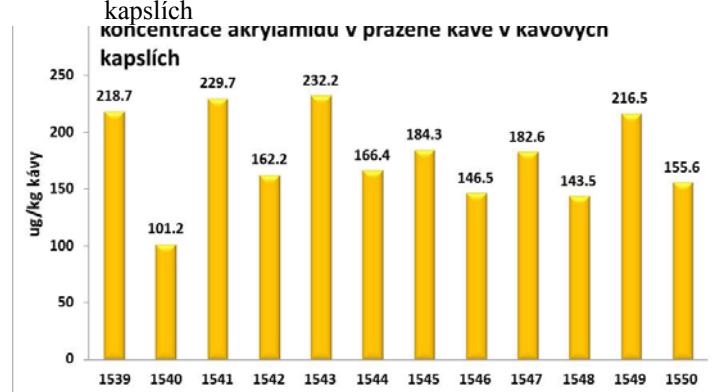
Obr. 6 Koncentrace ochratoxinu A v instantní kávě (maximální legislativní limit 10 µg/kg)



Obr. 7 Koncentrace furanu v mleté pražené kávě v kávových kapslích



Obr. 8 Koncentrace furanu v instantní kávě



Obr. 9 Koncentrace akrylamidu v mleté pražené kávě v kávových kapslích (doporučená směrná hodnota 450 µg/kg)



Obr. 10 Koncentrace akrylamidu v instantní kávě (doporučená směrná hodnota 900 µg/kg)

Literatura:

1. Ranić, M.; Konić-Ristić, A.; Takić, M.; Glibetić, M.; Pavlović, Z.; Pavlović, M.; Dimitrijević-Branković, S. Nutrient profile of black coffee consumed in Serbia: Filling a gap in the food composition database. *Journal of Food Composition and Analysis* **2015**, *40*, 61–69
2. Danhelova, H.; Hradecky, J.; Prinosilova, S.; Cajka, T.; Ridellova, K.; Vaclavik, L.; Hajslova, J. Rapid analysis of caffeine in various coffee samples employing direct analysis in real-time ionization-high-resolution mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **2012**, *403*, 2883–2889
3. Castellanos-Onorio, O.; Gonzalez-Rios, O.; Guyot, B.; Fontana, T.; Guiraud, J.; Schorr-Galindo, S.; Durand, N.; Suárez-Quiroz, M. Effect of two different roasting techniques on the Ochratoxin A (OTA) reduction in coffee beans (*Coffea arabica*). *Food Control* **2011**, *22*, 1184–1188
4. Mesías, M.; Morales, F. Reliable estimation of dietary exposure to furan from coffee: An automatic vending machine as a case study. *Food Research International* **2014**, *61*, 257–263
5. Anese, M.; Nicoli, M.; Verardo, G.; Munari, M.; Mirolo, G.; Bartolomeazzi, R. Effect of vacuum roasting on acrylamide formation and reduction in coffee beans. *Food Chemistry* **2014**, *145*, 168–172
6. Hajšlová, J.; et al. Srovnávací studie změn chemického složení kávy v závislosti na surovině a způsobu přípravy, 2012. Institut kávy.
http://institut-kavy.cz/UserFiles/Image/Foto%20kategorie/Institut_kavy_prezentace_2012.pdf
(accessed Aug 31, 2015).

R 8**NOVINKY V ONLINE VERZI DATABÁZE SLOŽENÍ POTRAVIN ČESKÉ REPUBLIKY – WWW.NUTRIDATABASE.CZ**

Macháčková, M.

Ústav zemědělské ekonomiky a informací, Mánesova 1453/75, 120 56 Praha 2

Agendu Databáze složení potravin České republiky zajišťuje Ústav zemědělské ekonomiky a informací z pověření MZe, které poskytuje prostředky na její správu a chemickou analýzu potravin. Realizace projektu je koordinována s mezinárodní sítí databází složení potravin EuroFIR (www.eurofir.org).

Databáze byla poprvé představena na této akci v rámci jejího XLIII. ročníku. Cílem tohoto příspěvku je informovat o novinkách, které byly součástí aktualizací databáze od r. 2013.

Rozšíření databázového souboru

Soubor dat byl rozšířen o data získaná chemickou analýzou vybraných potravin. V posledním období byla pozornost zaměřena na suroviny pro potravinářský průmysl v rozsahu dat nebytných pro generování povinných výživových údajů podle nařízení EU 1169/2011⁽¹⁾ o poskytování informací o potravinách spotřebitelům (energetická hodnota, obsah tuků, nasycených mastných kyselin, sacharidů, cukrů, bílkovin a soli). Soubor potravin zahrnoval výrobní maso hovězí a vepřové, maso drůbeží (kuřecí, kachní, krůtí, slepičí), maso králíčí, vejce a výrobky z vajec, ryby sladkovodní i mořské, ovoce, zeleninu, luštěniny, obiloviny, ořechy, semena olejnin a další potraviny. Celkem bylo v letech 2013-2014 analyzováno 220 potravin.

Chybějící data v databázi byla průběžně doplňována také s využitím zdrojů z literatury, např. ze zahraničních databází složení potravin v tištěné formě nebo z verzí vystavených zdarma na internetu. Upřednostněn byl sběr dat pro nutriety vyžadované legislativou – především obsah frakcí mastných kyselin (včetně jednotlivých mastných kyselin), obsah cukrů a soli.

Všechny hodnoty v databázi jsou vyjádřeny na 100 g jedlého podílu potravin. Hodnoty uvedené v DBSP jsou deklarovány jako orientační, neboť složení potravin jako biologické matrice není stálé. Je ovlivněno způsobem primární výroby surovin a potravin, jejich skladováním, nakládáním a zpracováním⁽²⁾.

Dokumentace dat odpovídá harmonizované metodice EuroFIR: popis potravin pomocí speciálního tezauru LanguaLTM (www.langual.org)^(3,4), dokumentace každé hodnoty vložené do databáze s využitím příslušných tezaurů EuroFIR (typ metody, typ hodnoty, typ zdroje dat, indikátor metody, atd.)^(5,6). Je zajištěna dohledatelnost zdrojů dat; citace jsou zveřejněny u každé hodnoty v online verzi databáze.

Přejmenování domény

V r. 2014 byl přejmenován název domény online verze databáze. Původní název www.czfcdb.cz vycházel z anglické verze názvu databáze **Czech Food Composition Database**. Byl zvolen název, který je lépe zapamatovatelný a navíc i srozumitelný v mezinárodním měřítku: NutriDatabase.cz. Byla zaregistrována rovněž doména www.NutriDatabase.cz, aby se předešlo případnému parazitování na novém názvu. Přesměrování ze starého názvu domény www.czfcdb.cz je zajištěno.

Aktualizace dat v online verzi databáze

V červnu 2015 byla provedena dávková aktualizace dat v online verzi databáze: Aktuální verze 5.15 (číslo verze.rok) obsahuje data pro téměř 700 potravin. Průběžně je doplňována rovněž fotodokumentace o snímků vzorků potravin určených k chemické analýze.

Dva formáty pro zobrazení potravin

Základním prvkem online databáze je záznam potravin, který je členěn na popis potravin a tabulku hodnot. Nově bylo zpřístupněno tzv. základní zobrazení záznamu v rozsahu údajů pro budoucí povinné nutriční značení podle nařízení 1169/2011/EU (Obr. 1).

Obr. 1 Ukázka základního a rozšířeného zobrazení záznamu potravin.

Záznam potravin

Základní zobrazení

Rozšířené zobrazení

- Název potravin
- Povinné výživové údaje (Nařízení 1169/2011/EU)
- Fotografie/fotogalerie
- Kopírování do schránky

Navíc:

- Popis potravin
- Citace zdroje dat

FCDB ID 0443

MASO KUŘECÍ, SPODNÍ STEHNO S KOSTÍ A KŮŽÍ

Chicken, drumstick, with skin and bone, raw



[Zobrazit fotogalerii \(2\)](#)

ZÁKLADNÍ INFORMACE
ROZŠÍŘENÉ INFORMACE

Obsah ve 100 g jedlého podílu

Název nutrientu	Hodnota	Jednotka
Energie kJ	529	kJ
Energie kcal	126	kcal
Lipidy celkové (tuky)	6.1	g
Sacharidy vyloučené	0	g
Bílkoviny celkové	17.8	g
Nasyčené mastné kyseliny	1.70	g
Cukry celkové	0	g
Sůl	0.27	g

[Umístit potravinu do schránky](#)

FCDB ID 0443

MASO KUŘECÍ, SPODNÍ STEHNO S KOSTÍ A KŮŽÍ

Chicken, drumstick, with skin and bone, raw



[Zobrazit fotogalerii \(2\)](#)

ZÁKLADNÍ INFORMACE
ROZŠÍŘENÉ INFORMACE

Používat kompletní výpis jako výchozí

Popis potravin kódy Langual:

A0272 A0459 A0633 A0719 A0726 A0741 A0795 A1022 A1258 A1275 B1467 C0265 E0159 F0003 G0003 H0001 J0131 K0003 M0001 N0001 P0024

[Zobrazit přifazené deskriptory](#)

[Umístit potravinu do schránky](#)

Obsah ve 100 g jedlého podílu

Název nutrientu	Kód EuroFIR	Jednotka	Hodnota	Citace
Nutrienty základní				
Energie kJ	ENERG	kJ	529	00012
Energie kcal	ENERG	kcal	126	00012
Bílkoviny celkové	PROT	g	17.8	00012

Registrovaný přístup a funkce „schránka“

Začátkem roku 2014 byla u webu databáze spuštěna možnost bezplatné registrace, což umožňuje uživatelům vkládání dat o nutričním složení potravin do schránky v rozsahu povinných údajů pro nutriční značení podle Nařízení (EU) 1169/2011. Informace o počtu potravin umístěných do schránky se zobrazuje v horní části obrazovky. (Obr. 2)

Obr. 2 Ukázka registrovaného přístupu s možností výběru dat do schránky

Centrum pro databázi složení potravin | Databáze složení potravin ČR, verze 4.13

[Schránka](#)
ÚZEI

NUTRIDATABA

Databáze složení potravin České republiky

Nacházíte se zde: Úvodní stránka » Evidence » Jáhody zahradní

- Úvodní stránka
- Vytváření potravin
- Documentace k databázi
- EuroFIR
- Odkazy
- Kontakt

Přihlášení uživatele

Přihlášený uživatel: machackova.mana@uzei.cz

[Nastavení účtu](#)

[Odhlásit se](#)

FCDB ID 0036

JAHODY ZAHRADNÍ

Strawberries, raw

Fragaria x ananassa Duchesne



ZÁKLADNÍ INFORMACE
ROZŠÍŘENÉ INFORMACE

Obsah ve 100 g jedlého podílu

Název nutrientu	Hodnota	Jednotka
Energie kJ	158	kJ
Energie kcal	37	kcal
Lipidy celkové (tuky)	0.4	g
Nasyčené mastné kyseliny	0.04	g
Sacharidy vyloučené	6.7	g
Cukry celkové	6.0	g
Bílkoviny celkové	0.8	g
Sůl	0	g

[Umístit potravinu do schránky](#)

Název potravin

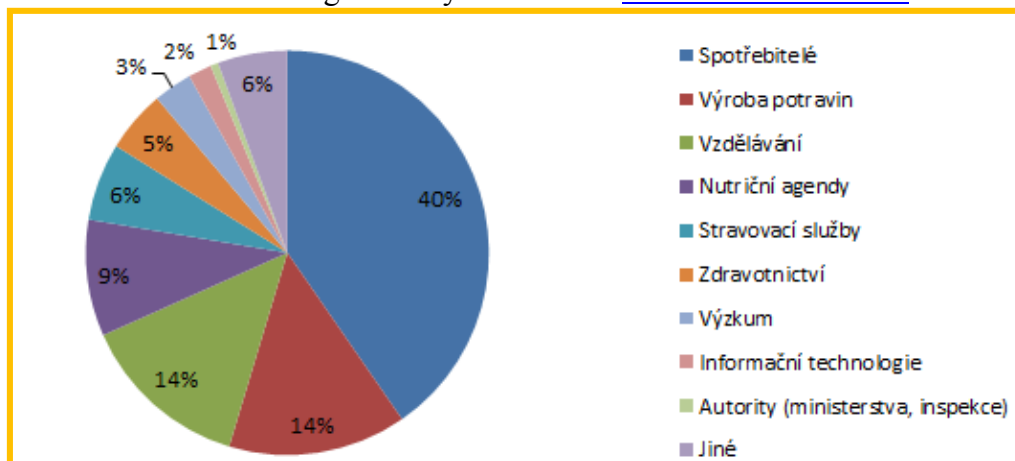
Klas

Pomeranče

Koeficient pro jedlý podíl	Energie kJ - kJ	Energie kcal - kcal	Lipidy celkové (tuky) - g	Nasyčené mastné kyseliny - g	Sacharidy vyloučené - g	Cukry celkové - g	Bílkoviny celkové - g	Sůl - g
0.67	244	58	0.8	0.04	10.3	6.8	1.0	0
0.73	209	49	0.2	0.02	10.0	7.3	0.9	0

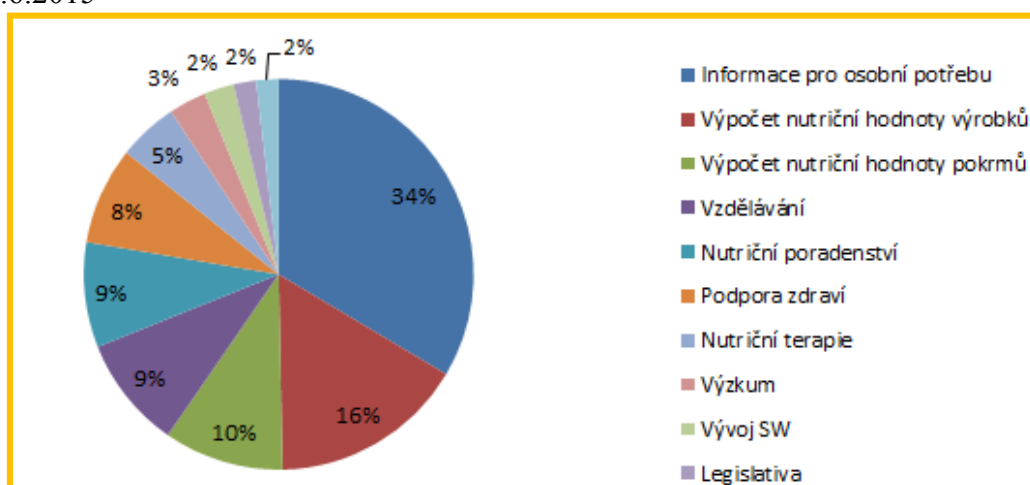
K 30. 6. 2015 se do systému zaregistrovalo celkem 161 uživatelů, z toho 66 za první pololetí r. 2015. S využitím registračního formuláře bylo možné vyhodnotit jejich strukturu a způsob využívání dat. Většina uživatelů (149) byla z České republiky. Do systému se zaregistrovalo také 7 uživatelů ze Slovenska a po 1 z ostatních států (Spojené království, Francie, Portugalsko, Rakousko, Švédsko). Převažovali uživatelé ze skupiny Spotřebitelé (40 %) – obr. 3

Obr. 3 Struktura všech registrovaných uživatelů www.nutridatabase.cz – stav k 30.6.2015



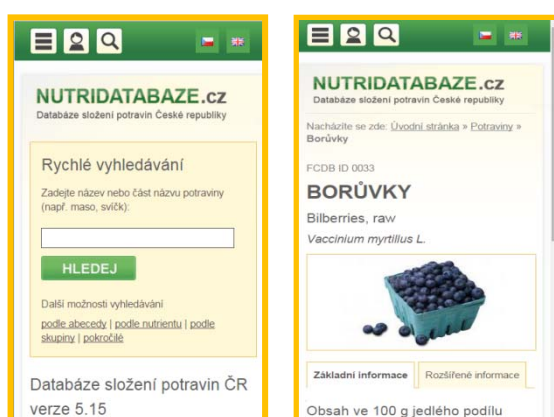
Většina uživatelů využívala data pro osobní potřebu (34 %). Řada uživatelů data použila pro výpočet nutriční hodnoty výrobků (16 %) nebo pokrmů (10 %). – Obr. 4

Obr. 4 Způsob využívání dat registrovanými uživateli www.nutridatabase.cz – stav k 30.6.2015



Statistiky přístupů

Web databáze byl spuštěn v prosinci r. 2010. V r. 2014 počet unikátních návštěvníků poprvé přesáhl hranici 50 tisíc. Průměrný denní počet návštěv se v současné době pohybuje okolo 205 návštěvníků. Web navštěvují především uživatelé z České republiky; počet návštěvníků z jiných států je výrazně nižší (Slovensko, USA a Rusko a další státy). Při prohledávání se využívá hlavně vyhledávání podle názvu potraviny, abecedy a nutrientu.



Další novinky

Web databáze byl uzpůsoben pro obrazovky dotykových zařízení mobilních telefonů a tabletů (Obr. 5).

Obr. 5 Zobrazení databáze na obrazovkách dotykových zařízení

V loňském roce byl v rámci rozšířeného vyhledávání úspěšně testován nový způsob vyhledávání – podle loga na obale

Závěr

Současný stav řešení naplňuje hlavní body iniciační koncepce projektu tvorby Databáze složení potravin pro Českou republiku, tj. vybudovat systém pro sběr, dokumentaci a zpřístupňování dat o složení potravin a zapojit národní agendu do celoevropských databázových systémů. Udržitelnost projektu, průběžné rozšiřování databáze o data pro další potraviny a navázání spolupráce s výrobci jsou hlavními cíli pro další období.

Poděkování

Budování Databáze složení potravin České republiky je podporováno z rozpočtu Ministerstva zemědělství. Některé aktivity byly podpořeny EuroFIR.

Literatura

1. Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 2011, L304/18.
2. CHURCH, S. M. EuroFIR Synthesis report No 7: Food composition explained. *Nutrition Bulletin*. 2009, roč. 34, č. 3, s. 250-272.
3. MØLLER, A. & IRELAND, J. (2008). *LanguaL 2008 - The LanguaL Thesaurus. EuroFIR Technical Report D1.8.21b*. Denmark: Danish Food Information.
4. MØLLER, A. IRELAND, J.. & SMITH, E. (2008a). *LanguaL 2008 - LanguaL Thesaurus Introduction*. Denmark: Danish Food Information.
5. BECKER, W., MOLLER, A., IRELAND, J., ROE, M., UNWIN, I. and PAKKALA, H. *Proposal for structure and detail of a EuroFIR Standard on food composition data II: Technical Annex. Version 2008*. Danish Food Information. 2008
6. MØLLER, A., UNWIN, I. D., IRELAND, J., ROE, M. A., BECKER, W. & COLOMBANI, P. (2008b). *The EuroFIR Thesauri 2008 EuroFIR Technical Report D1.8.22*. Denmark: Danish Food Information.

R 9**GLUTAMÁT - MUSÍME SE BÁT?**

Panovská Z., Ilko V., Míková K.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Internet je informační prostředí, které umožňuje velmi rychlé sdílení informací. Tyto informace nemusí být vždy vědecky podložené, ale pokud jsou dostatečně šokující, nebo přináší informace, které lidi zajímají, tak se šíří velmi rychle. Jedna z oblastí, která se na internetu hodně probírá, je zdravotní nezávadnost potravin. V posledních letech se na internetu objevují články typu "Tichý zabiják E621 - glutaman sodný" nebo "Pravda, celá pravda a nic než pravda o MSG. Glutaman sodný má podle těchto stránek negativní dopad na lidské zdraví. Glutaman však patří mezi jednu z nejvíce studovaných potravinářských přídatných látek. Přídatnými látkami se zabývá Společný výbor odborníků Organizace spojených národů pro výživu a zemědělství a Světové zdravotnické organizace pro potravinářské přídatné látky (Joint Food and Agriculture Organisation of the United Nations and the World Health Organisation Experts committee on food additives, dále jen „JECFA“). Hodnocení bezpečnosti glutamanu sodného (MSG) tímto výborem bylo provedeno společně se skupinou příbuzných sloučenin, tj. kyselinou L-glutamovou a jejími amonnými, vápenatými, draselnými a sodnými solemi. Tyto látky byly poprvé hodnoceny na čtrnáctém a sedmnáctém zasedání v roce 1971 a 1974. Další rozsáhlá studie, uskutečněná pod záštitou Světové zdravotnické organizace (WHO) a Světové organizace pro zemědělství (FAO) v roce 1987, žádný závažný vliv glutamátu na lidské zdraví nepotvrdila. Bylo publikováno, že zcela bezproblémová hranice je 120 mg/kg hmotnosti člověka (mimo přirozený přísun v neupravených potravinách). Přednáška se pokusí shrnout, co je doposud o glutamátu známo a seznámit s novými objevy týkající se chuti. V roce 2000 vědec Nirupa Chaudhari a jeho kolegové z Univerzity v Miami objevili L-glutamát receptor, který pojmenovali taste-mGluR4. Při porovnání tohoto chuťového receptoru s mGluR4 receptorem, který funguje jako neurotransmiter, je chuťový receptor zkrácenou variantou, která postrádá 50% genetického kódu mGluR4.

R 10**SŮL VE VÝŽIVĚ ČLOVĚKA A JEJÍ OBSAH V POTRAVINÁCH**

Dostálová J. (1), Brát J. (2)

(1) Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha,

(2) Víím, co jím a piju o.p.s.

Souhrn

Vysoký příjem kuchyňské soli (NaCl) je v současné době hodnocen jako největší rizikový faktor ve stravě obyvatel vyspělých průmyslových zemí. V České republice je příjem zhruba trojnásobný (až 17 g/den) než je příjem 5 g doporučený WHO. U dětí byl zjištěn příjem o 400 až 600 % vyšší než doporučený. Nejvíce soli přijímáme prostřednictvím potravinářských výrobků (většina studií prezentuje, že tvoří 75 % denního příjmu, existují ale i odhady nižší), zbytek konzumujeme prostřednictvím pokrmů. Přirozený obsah sodíku v potravinářských surovinách je velmi proměnlivý. V mnoha surovinách rostlinného původu se sodík řadí spíše k minoritním prvkům (při technologickém zpracování se může přidavkem kuchyňské soli výrazně zvýšit), vyšší je v potravinách živočišného původu a v různých pochutinách – sójové omáčce, marinádách a dochucovadlech, hotových omáčkách na těstoviny, bramborových chipsech, slaných tyčinkách, solených ořechách aj. Vyšší obsah sodíku mají i některé přírodní minerální vody. Byly prezentovány výsledky analýzy 20 pekařských výrobků a 10 druhů smažených bramborových lupínků. Obsah soli v pekařských výrobcích se pohyboval v rozmezí 0,71 – 1,83 g/100 g, v bramborových lupíncích 0,40 – 1,09 g/100g. Při konzumaci vyššího množství těchto výrobků (pekařské výrobky přitom patří k základním potravinám) vyčerpá konzument podstatnou část

tolerovaného denního příjmu. Je proto důležité, aby výrobci v mezích technologických a senzorických možností obsah soli v potravinách postupně snižovali. Je žádoucí snižovat i obsah soli v pokrmech, zejména bychom měli omezovat prisolování hotových pokrmů.

Úvod

Vysoký příjem kuchyňské soli (NaCl) je v současné době hodnocen jako největší rizikový faktor ve stravě obyvatel vyspělých průmyslových zemí. Podle výživových doporučení Společnosti pro výživu by se měla snížit spotřeba kuchyňské soli na 5 - 6 g za den. U starších lidí, kde je častěji sledovaná hypertenze a další onemocnění pod 5 g za den. WHO doporučuje 5 g/den. V České republice je příjem zhruba trojnásobný - až 17 g/den. U dětí byl zjištěn příjem o 400 až 600 % vyšší než doporučený. Nejvíce soli přijímáme prostřednictvím potravinářských výrobků (většina studií prezentuje, že tvoří 75 % denního příjmu, existují ale i odhady nižší) zbytek konzumujeme prostřednictvím pokrmů. Přirozený obsah sodíku v potravinářských surovinách je velmi proměnlivý. V mnoha surovinách rostlinného původu se sodík řadí spíše k minoritním prvkům (při technologickém zpracování se může přidavkem kuchyňské soli výrazně zvýšit, např. v některých pekařských výrobcích nebo přidavkem glutamátu), vyšší je v potravinách živočišného původu a v různých pochutinách – sójové omáčky, marinádách a dochucovadlech, hotových omáčkách na těstoviny, bramborových chipsech, slaných tyčinkách, solených ořechách aj. Vyšší obsah sodíku mají i některé přírodní minerální vody (tabulka č. 1).

Tabulka č.1: Obsah sodíku ve významných zdrojích

Potravina	mg/kg	Potravina	mg/kg
Maso vepřové	450-600	Vejce	1350
Maso kuřecí	470	Chléb celozrnný	4000-6000
Játra vepřová	770	Luštěniny	20-550
Ryby	650-1200	Špenát	600-1200
Mléko plnotučné	480-500	Čokoláda mléčná	2800
Sýry	450-14100	Poděbradka	500

Potraviny s vyšším obsahem soli

- Některé rybí výrobky až 14%
- Bílé sýry např. sýry typu balkán, jader až 6%
- Modré sýry (plísňové) – 4-5%
- 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, zvláště sypané soli

Materiál

Bylo analyzováno 20 pekařských výrobků a 10 druhů smažených bramborových lupínků zakoupených v české tržní síti v druhém pololetí 2014.

Výsledky

Jsou prezentovány výsledky analýz pekárenských výrobků, které získala Iniciativa Vím, co jím a piju v rámci projektu Národní strategie Zdraví 2020, který je řešen pod záštitou Ministerstva zdravotnictví ČR a analýzy VÚ pivovarského a sladařského pro pořad ADOST!, ve kterém vystoupila autorka sdělení.



Obsah soli v bramborových lupíncích (%)

Název výrobku	Obsah soli
Smažené brambůrky solené 80 g	0,78
Lay's salted 77 g	0,84
Strážnické brambůrky 60 g	0,75
Bohemia tradiční české brambůrky 50 g	0,86
Chips gesalzen-Crusti Croc 150 g	0,70
Bohemia vroubkované s mořskou solí 70 g	0,90
World of Chips salted potato crisps 150 g	1,09
Bohemia jemně solené 77 g	0,55
Lorenz Chipsletten sea salt 100 g	0,36
Bramborové lupínky smažené solené 200 g	0,40

Závěr

Obsah soli v pekařských výrobcích se pohyboval v rozmezí 0,71 – 1,83 g/100 g, v bramborových lupíncích 0,40 – 1,09 g/100g. Při konzumaci vyššího množství těchto výrobků (pekařské výrobky přitom patří k základním potravinám) vyčerpá konzument podstatnou část tolerovaného denního příjmu. Je proto důležité, aby výrobci v mezích technologických a senzorických možností obsah soli v potravinách postupně snižovali. Zaměřit by se měli především na výrobky s vysokou spotřebou (pekařské, masné, některé sýry). Je žádoucí snižovat i obsah soli v pokrmech, zejména bychom měli omezovat přisolování hotových pokrmů. Obliba slané chuti je návyková, a proto je nutné zvykat děti na méně slané potraviny a pokrmy.

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 Víím, co jím.



Literatura

Košťálová A., Sůl – kdy pomáhá a škodí (2015), Výživa a potraviny – Zpravodaj pro školní stravování, 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 2.9.2015

R 11**CHLÉB A PEČIVO JAKO SOUČÁST PESTRÉ A VYVÁŽENÉ STRAVY**

Brát J. (1), Skřivan P. (2), Dostálová J. (3)

(1) Vím, co jím a piju o.p.s., Praha; (2) Žitné centrum, Praha; (3) Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Konzumace pekařských výrobků má v České republice dlouholetou tradici. Trh nabízí široký sortiment různých výrobků, co se týče druhů i jakosti. Pekařské výrobky jsou významnou složkou naší každodenní stravy. Tvoří základ výživové pyramidy. Slouží jako zdroj energie. Přispívají významnou měrou k doporučenému příjmu vlákniny. Její obsah se však může u jednotlivých druhů významně lišit. Obiloviny obsahují převážně nerozpustné složky vlákniny, celulosu a β -glukany a nerozpustné pentosany (hemicelulosa) a to v obalových a podobalových vrstvách zrna. Proto jsou na vlákninu výrazně bohatší vysoce vymleté (tmavé) a celozrnné mouky. V endospermu (moučném jádru) se vyskytují v menší míře také rozpustné pentosany, jejichž výskyt je významný především v žitných moukách. Pekařské výrobky přispívají k celkové bilanci příjmu bílkovin. Obsah bílkovin v obilné mouce je přibližně 10 – 13 %. Bílkoviny nejsou plnohodnotné, protože mají nižší obsah nezbytné aminokyseliny lysinu. Obiloviny jsou zdrojem vitaminů skupiny B a z minerálních látek obsahují fosfor, železo, vápník, hořčík, draslík, zinek a další. Využitelnost minerálních látek z rostlinných zdrojů bývá nižší než z živočišných. Vyšší obsah vitaminů a minerálních látek, které pocházejí především z buněk aleuronové vrstvy na rozhraní moučného jádra a podobalových vrstev, se proto nachází v tmavých moukách.

Chléb a pečivo většinou nekonzumujeme jen samotné. Často si na ně něco namažeme, přidáme sýr, šunku, salám, případně zeleninu. Jaká je výživová hodnota obloženého chleba nebo pečiva, bylo předmětem simulačních výpočtů. Vycházeli jsme z dostupných výživových údajů pro tuky, sýry, masné výrobky (obaly výrobků, web www.makro.cz) a sledovali, která varianta vyhoví výživovému profilu WHO, případně standardu Vím, co jím pro obložené chleby a pečivo (sendviče). Výživové údaje pro chléb a pečivo byly získány z výsledku testů, který uskutečnila společnost Vím, co jím a piju prostřednictvím laboratoře ASL¹.

Byly vytvořeny modelové sendviče:

- a/ různé druhy sýrů Eidam 20 %, 30 % a 45 % tuku v sušině, případně plísňový sýr Niva v množství 20 g v kombinaci s toustovým chlebem (2 krajíce - 2 x 20 g)
- b/ sýr Cottage a Gervais mající různý obsah tuku v množství 25 g s chlebem (1 krajíc - 50 g)
- c/ Krutí šunka pro děti a salám Vysočina v množství 20 g s pečivem (1 rohlík 43 g).

Chléb a pečivo byly namazány rostlinným roztíratelným tukem s příznivým složením mastných kyselin (nižší podíl nasycených mastných kyselin, převažující podíl polynenasycených mastných kyselin při vyváženém zastoupení skupin omega 3 a 6, neobsahující částečně ztužené tuky a tím ani vyšší podíl transmastných kyselin) s obsahem tuku 70 %, případně 45 %, máslem nebo roztíratelným mléčným tukem. Tradiční pomazánkové vždy v množství 10 g, což představuje obecně uvažovanou jednu porci. Vždy byla použita zeleninová obloha v množství 50 g v různých variantách (rajče, okurka, salát). Výživové profily WHO a standard Vím, co jím pro kategorii sendviče jsou uvedeny v tab. I.

Obsah cukru se u těchto typů sendvičů, kde byl při přípravě použit jen tuk, sýr nebo masný výrobek neprojevil, všechny výrobky vyhověly. Podobně tomu bylo i v případě transmastných kyselin. Ostatní výživové údaje uplatňující se ve výživových profilech (energetická hodnota, obsah tuku, nasycených mastných kyselin, soli a vlákniny) jsou uvedeny v následujících tabulkách pro jednotlivé druhy obložených chlebů a pečiva. Zeleně jsou vyznačeny hodnoty, které splnily dané kritérium, červeně, které jej naopak nesplnily. Oranžovou barvou jsou označeny výsledky, které se limitním hodnotám velmi blížily.

Tab. I: Kritéria WHO a Vím, co jím pro kategorii sendvičů^{2,3}

Profil WHO pro sendviče	Standard Vím, co jím pro sendviče
Celkový obsah tuku ≤ 10 g/100 g	Obsah nasycených mastných kyselin $\leq 1,1$ g/100 g nebo 13 % z celkového příjmu energie
Obsah nasycených mastných kyselin ≤ 4 g/100 g	Obsah transmastných kyselin $\leq 0,1$ g/100 g nebo 1,3 % z celkového příjmu energie
Celkový obsah cukrů ≤ 10 g/100 g	Obsah přidaného cukru $\leq 2,5$ g/100 g nebo 13 % z celkového příjmu energie
Obsah soli ≤ 1 g/100 g	Obsah soli $\leq 4,75$ mg/kcal
Obsah energie ≤ 225 kcal/100 g	Obsah vlákniny $\geq 0,8$ g/kcal
	Obsah energie ≤ 350 kcal/100 g

Tab. II: Chléb s čerstvým sýrem s rajčatovou oblohou

		Sendvič A	Sendvič B	Sendvič C	Sendvič D	Sendvič E
WHO	Energetická hodnota (kcal/100 g)	192	205	188	185	168
	Tuky celkem (g/100 g)	9,2	11,1	9,2	8,5	6,3
	Nasycené MK* (g/100 g)	2,4	3,7	3,2	5,2	2,7
	Sůl (mg/100 g)	427	427	441	664	454
VCJ	Nasycené MK* (en %)	11,5	16,3	15,3	25,4	14,6
	Sůl (mg/kcal)	2,2	2,1	2,3	3,6	2,7
	Vláknina (g/kcal)	1,2	1,1	1,2	1,2	1,4

*MK – mastné kyseliny

Sendvič A slunečnicový chléb 50 g, rostlinný roztíratelný tuk 70 % 10 g, sýr Cottage 25 g, rajče 50 g

Sendvič B slunečnicový chléb 50 g, rostlinný roztíratelný tuk 70 % 10 g, Gervais 25 g, rajče 50 g

Sendvič C slunečnicový chléb 50 g, rostlinný roztíratelný tuk 45 % 10 g, Gervais 25 g, rajče 50 g

Sendvič D kmínový chléb 50 g, máslo 10 g, sýr Cottage 25 g, rajče 50 g

Sendvič E slunečnicový chléb 50 g, Tradiční pomazánkové 10 g, sýr Cottage 25 g, rajče 50 g

V tabulce jsou srovnávány čerstvé sýry Cottage a Gervais s různým obsahem tuku v sušině. Sendvič A vyhověl všem parametrům, jak profilu WHO, tak i standardu Vím, co jím. Tento příklad ukazuje, jak by měla vypadat vhodná svačina či snídaně nejen pro děti. Kombinace celozrnného chleba s nižším obsahem soli namazaného kvalitním rostlinným tukem s nižším obsahem nasycených mastných kyselin, s čerstvým sýrem Cottage s nižším obsahem mléčného tuku a tím i nasycených mastných kyselin, doplněná zeleninovou oblohou je schematickým návodem na výživově vyvážený pokrm. Použijeme-li Gervais s vyšším obsahem tuku místo sýru Cottage v kombinaci s rostlinným tukem s vyšším obsahem tuku, překročíme limitní hodnotu obsahu tuku ve výživovém profilu WHO i parametr obsahu nasycených mastných kyselin ve standardu Vím, co jím (sendvič B). Zpět do limitu WHO pro celkový obsah tuku se můžeme dostat záměnou rostlinného tuku s nižším obsahem tuku (sendvič C). Sendvič D ukazuje, jak kombinace másla a čerstvého sýru s vyšším obsahem tuku vede k překročení parametru WHO i kritéria Vím, co jím pro nasycené mastné kyseliny. Kmínový chléb měl vyšší obsah soli než slunečnicový, což se projevilo i zvýšením obsahu soli, hodnota je však stále v limitu kritéria Vím, co jím pro sůl. Ke splnění výživového profilu WHO je nutno použít roztíratelný mléčný tuk (např. Tradiční pomazánkové) s nižším obsahem tuku (sendvič E), kritérium Vím, co jím pro nasycené mastné kyseliny je však stále překročeno.

Tab. III: Toastový chléb se sýrem a okurkou

		Sendvič F	Sendvič G	Sendvič H	Sendvič I
WHO	Energetická hodnota (kcal/100 g)	176	168	153	214
	Tuky celkem (g/100 g)	8,8	8,7	6,2	13
	Nasycené MK* (g/100 g)	3,4	3,8	2,1	8,5
	Sůl (mg/100 g)	655	747	604	1028
VCJ	Nasycené MK* (en %)	17,1	20,1	12,5	35,6
	Sůl (mg/kcal)	3,7	4,4	3,9	4,8
	Vláknina (g/kcal)	0,8	0,9	1	0,6

*MK – mastné kyseliny

Sendvič F celozrnný toastový chléb 40 g, rostlinný roztíratelný tuk 70 % 10 g, Eidam 30 % t.v.s. 20 g, okurka 50 g,

Sendvič G celozrnný toastový chléb 40 g, rostlinný roztíratelný tuk 45 % 10 g, Eidam 45 % t.v.s. 20 g, okurka 50 g

Sendvič H světlý toastový chléb 40 g, rostlinný roztíratelný tuk 45 % 10 g, Eidam 20 % t.v.s. 20 g, okurka 50 g

Sendvič I světlý toastový chléb 40 g, máslo 10 g, Niva 20 g, okurka 50 g

Výživovému profilu WHO vyhověly všechny kombinace rostlinných tuků se sýrem Eidam o různém obsahu tuku v sušině uvedené v tabulce. Obsah soli dle profilu WHO je splněn díky zeleninové obloze, která snižuje parametr obsahu soli ve 100 g pokrmu. V případě sýru Eidam s 30 % tuku v sušině lze v rámci profilu WHO použít rostlinný tuk s vyšším obsahem tuku (sendvič F). Aby se obložený toastový chléb se sýrem Eidam 45 % tuku v sušině (sendvič G) udržel v mezích, je nutno vykompenzovat zvýšený podíl mléčného tuku rostlinným tukem s nižším obsahem tuku. Kritéria Vím, co jím jsou přísnější. Splnění parametru pro nasycené mastné kyseliny lze dosáhnout kombinací rostlinného roztíratelného tuku 45 % a sýru Eidam s 20 % tuku v sušině (sendvič H). Kombinace sýru Niva a másla vedla k mírnému překročení parametru pro sůl z profilu WHO a výraznému překročení ukazatele obsahu tuku a nasycených mastných kyselin (sendvič I). Překročeny jsou rovněž všechny parametry standardu Vím, co jím, sůl jen mírně.

Tab. IV: Rohlík se šunkou nebo salámem a zeleninovou oblohou

		Sendvič J	Sendvič K	Sendvič L	Sendvič M	Sendvič N
WHO	Energetická hodnota (kcal/100 g)	181	189	155	258	231
	Tuky celkem (g/100 g)	7,6	8,6	4,5	16,4	13,4
	Nasycené MK* (g/100 g)	1,6	4,6	1,9	6,9	3,3
	Sůl (g/100 g)	766	741	796	1138	1179
VCJ	Nasycené MK* (en %)	7,9	21,9	11	24	12,8
	Sůl (mg/kcal)	4,2	3,9	5,1	4,4	5,1
	Vláknina (g/kcal)	1,2	1,1	1,4	0,6	0,6

*MK – mastné kyseliny

Sendvič J rohlík 43 g, rostlinný roztíratelný tuk 70 % 10 g, krutí šunka 20 g, okurka 20 g, rajče 20 g, salát 10 g

Sendvič K rohlík 43 g, máslo 10 g, krutí šunka 20 g, okurka 20 g, rajče 20 g, salát 10 g

Sendvič L rohlík 43 g, tradiční pomazánkové 10 g, krutí šunka 20 g, okurka 20 g, rajče 20 g, salát 10 g

Sendvič M rohlík turistický solený 43 g, máslo 10 g, Vysočina 20 g, okurka 20 g, rajče 20 g, salát 10 g

Sendvič N rohlík turistický solený 43 g, rostlinný roztíratelný tuk 45 % 10 g, Vysočina 20 g, okurka 20 g, rajče 20 g, salát 10 g

Rohlík namazaný rostlinným tukem s libovou krutí šunkou splňuje profil WHO i standard Vím, co jím (sendvič J). Nahradíme-li rostlinný tuk máslem, dojde k překročení parametru pro nasycené mastné kyseliny (sendvič K). Aby se obložený rohlík s krutí šunkou udržel v mezích profilu WHO, je nutno použít roztíratelný mléčný tuk (např. Tradiční pomazánkové) s nižším obsahem tuku (sendvič L). Nižší energetická hodnota u této varianty vedla k překročení parametru pro sůl v rámci standardu Vím, co jím. Vůbec nejhorším sendvičem byl rohlík posypaný solí namazaný máslem se salámem Vysočina (sendvič M). Takto připravená svačina nevyhověla většině parametrů výživového profilu WHO a standardu Vím, co jím. Parametr pro sůl v rámci kritérií Vím,

co jím byl splněn jen díky vyšší energetické hodnotě pokrmu. Nahradíme-li máslo rostlinným tukem, výrazně se sníží obsah nasycených mastných kyselin. Obsah tuku, energetická hodnota, stejně jako obsah soli zůstávají velmi vysoké (sendvič N). Tento příklad názorně ukazuje, proč nejsou uzeniny s vyšším obsahem tuku a soli v rámci správné výživy doporučovány.

Splnit parametry výživového profilu WHO je snadnější v porovnání s kritérii Vím, co jím. Navíc sůl nebyla ve většině případů limitující faktor. Až na dva případy (salám Vysočina a plíšňový sýr Niva) všechny obložené chleby a pečivo měly obsah soli nižší než 1 %. Důležitou roli v tom hraje do jisté míry i zeleninová obloha, která snižuje obsah soli ve 100 gramech pokrmu. Sledované vzorky chleba a pečiva rovněž neměly extrémně vysoký obsah soli. Chléb a pečivo sice mohou významně přispívat k celkovému příjmu soli, pokud je však konzumace umírněná a vybírají se výrobky s nižším obsahem soli, je možno se vejít do profilu WHO i standardu Vím, co jím.

Kombinací vhodně zvoleného rostlinného roztíratelného tuku, sýra a libové šunky lze splnit všechny parametry jak profilu WHO, tak i standardu Vím, co jím. Záleží samozřejmě na množství jednotlivých komponent. Jeden rohlík, krajíc chleba nebo 2 plátky toastového chleba a 10 g tuku jsou obecně považovány za jednu porci. Pokud by se použilo větší množství tvrdého sýra nebo šunky došlo by k překročení parametru pro sůl, případně i jiných parametrů souvisejících s obsahem skrytého tuku.

Závěr

Obložené chleby a pečivo představují po výživové stránce jeden z nejhodnotnějších pokrmů, navíc rychle a jednoduše připravených. Je však potřeba správně postupovat při výběru jednotlivých komponent. Základem je výběr chleba nebo pečiva, preferováno by mělo být celozrnné s vyšším podílem vlákniny. Jedním ze současných vývojových trendů ve výrobě chleba a pečiva je snižování obsahu soli. Ukazuje se, že na trhu jsou mezi jednotlivými druhy velké rozdíly v obsahu soli. Vybrat si variantu s nižším obsahem soli je však často obtížné, u nebaleného zboží informace o obsahu soli chybí. Pokud namažeme celozrnný chléb kvalitním rostlinným roztíratelným tukem, přidáme sýr s nižším obsahem tuku (např. Cottage) a zeleninovou oblohu, vznikne výživově hodnotná snídaně či svačina. Poskytuje vyvážený poměr důležitých živin jako bílkoviny, esenciální mastné kyseliny, vápník, vitaminy A, řady B, C, D i E a vlákninu. Zároveň má nižší obsah soli, tuku, nasycených mastných kyselin a cukrů, což odpovídá mezinárodním výživovým standardům, jako jsou profil WHO nebo kritéria Vím, co jím. Takto zvolená kombinace ob stojí i vůči snídaňovým cereáliím, které mají často vysoký obsah cukru a obsahují jen zanedbatelné množství esenciálních mastných kyselin omega 3 a 6. Výživovým profilům WHO a kritériím Vím, co jím vyhověly i kombinace rohlík, rostlinný tuk a krutík šunka s nižším obsahem soli, podobně jako toastový chléb, rostlinný tuk se sníženým obsahem tuku a sýr Eidam s 20 % tuku v sušině. Modelové výpočty ukazují, že pokud sýr nebo masný výrobek obsahují vyšší podíl tuku, je obtížné splnit kritéria za použití dalších živočišných tuků na namazání. Skrytý tuk v sýru nebo masném výrobku doplněný živočišným tukem na mazání výrazně zvyšuje podíl nasycených mastných kyselin u obložených chlebů, proto je výhodnější volit rostlinný tuk s příznivým složením mastných kyselin. Je-li vyšší podíl tuku v mléčných výrobcích, je potřeba jej kompenzovat sníženým obsahem tuku v rostlinném tuku, aby skladba mastných kyselin byla vyvážená a obsah tuku odpovídal standardům.

Literatura

1. Bednářová D.: Test pečiva – podívejte se na výsledky.
http://www.vimcojim.cz/cs/spotrebitel/zdrava-vyziva/vyvazena-strava/Test-peciva---podivejte-se-na-vysledky_s638x8922.html
2. WHO Regional Office for Europe nutrient profile model
http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0005/270716/Nutrient-Profile-Model.pdf?ua=1
3. Product Criteria for Europe, Version 2.3, 1 December 2011
http://www.vimcojim.cz/files/VCJ%20zakladni/Choices_product_criteria_v2-3_Europe_111201.pdf

R 12**PŘÍRODNÍ ZDROJE VLÁKNINY PRO OBOHACENÍ CEREÁLNÍCH VÝROBKŮ NA BÁZI PŠENIČNÉ MOUKY**

Hrušková M., Švec I., Čápková V.
Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT Praha

Souhrn

Cereální výrobky, které jsou z nutričního hlediska deficitní obsahem vlákniny, lze fortifikovat různými plodinami a přírodními produkty, které jsou naopak charakteristické obsahem této pro zdraví člověka významné složky. Obsah vlákniny (TDF, IDF, SDF) ve vzorcích kompozitních směsí, pečiva, sušenek a těstovin byl stanoven podle platných norem (AOAC 985.29, AOAC 991.42, AOAC 993.19) s použitím přístroje Fibertec (Sv.). Bylo zjištěno, že již přídavky celozrnné mouky z dalších obilovin lze zvýšit zastoupení složek vlákniny potravy. Množství 50 % celozrnné mouky ze pšenice se projevilo zvýšením celkové vlákniny (TDF) o 3,4 %. V kompozitní směsi s 50 % žitné celozrnné mouky byl zjištěn nárůst nerozpustné složky (IDF) z 2,3 na 7,5 %. Přídavek celozrnné ovesné a ječné mouky má vliv na zvýšení rozpustné složky (SDF) o 100 %. Pro obohacení cereálních výrobků vlákninou lze použít také netradiční plodiny. Lněná vláknina jako produkt získaný po lisování oleje ze semena lnu setého je vhodným produktem pro zvýšení nutriční hodnoty sušených těstovin vlivem téměř čtyřnásobného obsahu SDF. Přídavek 10 % konopné mouky se projevil zvýšením TDF o 1 %. Zvýšení o cca 2 % bylo zjištěno již pětiprocentním množstvím mouky z chia semen. Kombinace těchto plodin s ječmenem lze využít současně k maskování typické ječné příchuti cereálních výrobků. Např. pečivo ze směsi pšeničné a 30 % ječné mouky s přídavky 5 % hladké konopné mouky mělo vyšší obsah IDF o 0,5 %. Chia semena, která poskytují pšenično-ječným sušenkám příjemnou příchut', se projevují zvýšením obsahu TDF o téměř 2 %. Zvýšení obsahu SDF (z 1,2 na 1,6 %) bylo dosaženo ve směsi s přídavkem 5 % tef. Mlýnské výrobky z opuncie a jedlého kaštanu mají vyšší obsah všech složek vlákniny ve srovnání s pšeničnými.

Klíčová slova: cereální výrobky, obsah IDF, SDF a TDF, netradiční plodiny

Úvod

Cereální výrobky na bázi pšeničné mouky, kam patří sortiment běžného a jemného pečiva, trvanlivého pečiva a těstovin, jsou ve spotřebě významným zdrojem energie, rostlinných bílkovin, fosforu, vápníku a vitaminů B₁ a B₂. Vysoké množství polysacharidů se však neprojevuje v nutričně požadovaném zastoupení vlákniny, kde rozpustná složka (SDF) tvoří cca 1,2 %. Pro zvýšení obsahu vlákniny v cereálních výrobcích jsou v souladu s trendy zdravé výživy vhodné přírodní produkty, kam lze zahrnout přídavky jiných obilovin a netradičních plodin pěstovaných nejen v ČR. Celozrnné mouky z obilovin (pšenice, žito, ječmen, oves) lze použít nejen pro výrobu celozrnného pečiva, ale i jako přirozený produkt ke zvýšení obsahu vlákniny v cereálních výrobcích z pšeničné mouky hladké světlé (Hofmanová, 2011). Semena lnu setého lze označit nejen za významný zdroj omega 3 a 6 nenasycených mastných kyselin, ale po lisování se získá výrobek s komerčním názvem lněná vláknina. Obsah rozpustné vlákniny v něm obsažené způsobil násobné zvýšení této složky v těstovinách standardních spotřebitelských znaků (Hrušková et al., 2013). Sortiment cereálních výrobků s vyšší nutriční hodnotou lze rozšířit také užitím méně známých plodin, kam patří amarant, lupina a quinoa (Hofmanová et al., 2014). V současné době je populární užití semen konopí setého v potravinách. Pro fortifikaci cereálních výrobků jsou užívané celozrnné produkty z loupáního i neloupáního semene a hladké mouky, získané z konopných výlisků. V množství do 10 % byly navrženy receptury pro pečivo a sušenky s přijatelným senzoryckým profilem a zvýšeným obsahem vlákniny (Švec a Hrušková, 2014). Doposud méně známé jedlé produkty ze semen chia, tef, opuncie nebo kaštanu jsou potenciálním zdrojem pro vývoj cereálních výrobků s násobným obsahem vlákniny ve srovnání s pšeničnými druhy (Hrušková et al., 2013).

Cílem práce je návrh přírodních zdrojů na bázi obilovin, luštěnin a jiných botanických forem domácího i zahraničního původu s nutričně příznivým složením vhodných pro fortifikaci cereálních

výrobků. Netradiční plodiny byly v průběhu posledních let ověřeny jako recepturní složka pro pšeničné pečivo, vypichované sušenky a sušené těstoviny s vyšším obsahem vlákniny. Výstupy aplikovaného výzkumu jsou zde popsány obsahem rozpustné (SDF), nerozpustné (IDF) a celkové (TDF) vlákniny ve vzorcích kompozitní směsi, pečiva, sušenek nebo těstovin.

Materiál a metody

Interní laboratorní postupy pro výrobu pšeničného pečiva, vypichovaných sušenek a sušených těstovin byly modifikovány přísady různých přírodních produktů v množství, které zaručuje zvýšený obsah vlákniny a přijatelný senzorický profil výrobků z modelových pokusů.

Byly testovány:

- celozrnné mouky ze pšenice, žita, ječmene a ovsa
- lněná vlákniny
- amarant, lupina, quinoa
- konopné produkty
- chia, teř
- nopál, kaštan.

Přísady se pohybovaly v rozsahu 2,5 – 50 % podle typu produktu a cereálního výrobku.

Obsah vlákniny (TDF, IDF, SDF) ve vzorcích kompozitních směsí, pečiva, sušenek a těstovin byl stanoven podle platných norem (AOAC 985.29, AOAC 991.42, AOAC 993.19) s použitím přístroje Fibertec (Sv.).

Výsledky a diskuse

Vliv přísady celozrnné mouky z obilovin

Zrna všech obilovin jsou přirozeným zdrojem polysacharidů uložených v obalových vrstvách a podle principu stanovení se označují jako vláknina potravy. V Tab. 1 je uveden obsah vlákniny ve vzorcích kompozitní směsi, která obsahuje 20 a 50 % celozrnné mouky ze pšenice, žita, ječmene a ovsa.

Ve srovnání s pšeničnou moukou hladkou světlou M bylo podle očekávání zjištěno zvýšení všech složek vlákniny v závislosti na přidaném množství. Z hlediska složení je v obsahu celkové vlákniny více zastoupen nerozpustný podíl bez ohledu na druh obiloviny. Žitná celozrnná mouka je nejlepším donorem všech forem vlákniny a potvrzuje obecně známý význam chleba ve výživě. V kompozitní mouce s ovsem byl zjištěn nejnižší poměr mezi IDF a SDF (1,4). Kompozitní směs s 50 % celozrnné pšeničné vykazuje tento poměr v optimální výši (3:1). Uvedený vztah podle Reyes-Caudillo et al., (2008) predikuje dobré využití vlákniny přítomné ve studovaném vzorku.

Tab. 1 Vláknina ve vzorcích kompozitní směsi s celozrnnými moukami

Vzorek	Přídavek (%)	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Pšeničná mouka (M)	-	2,3	1,2	3,4
M + ječná mouka celozrnná	20	2,7	2,3	5,2
	50	5,6	2,8	8,4
M + ovesná mouka celozrnná	20	2,5	2,5	5,7
	50	3,9	2,8	8,4
M + pšeničná mouka celozrnná	30	4,0	1,3	5,4
	50	5,0	2,0	6,8
M + žitná mouka celozrnná	30	4,5	2,1	6,5
	50	7,5	3,0	8,9

Vliv přísady lněné vlákniny

Pro vzorek s komerčním názvem „lněná vláknina“ uvádí výrobce Walmarkt (NZ) cca 45 % vlákniny. Ve sledovaném složení kompozitní mouky byly zjištěny nejvyšší hodnoty pro TDF, jejíž

obsah je např. pro 20% přídavek cca 4x vyšší než v pšeničné mouce. Úměrně přidanému množství se zvyšují i obsahy vlákniny rozpustné (SDF) a nerozpustné (IDF), jak je patrné z Obr. 1. Přidávky až do 20 % lze použít pro sušené těstoviny s vlastnostmi srovnatelnými s pšeničnými.

Vliv přídavku mouky z lupiny, amarantu a quinoi

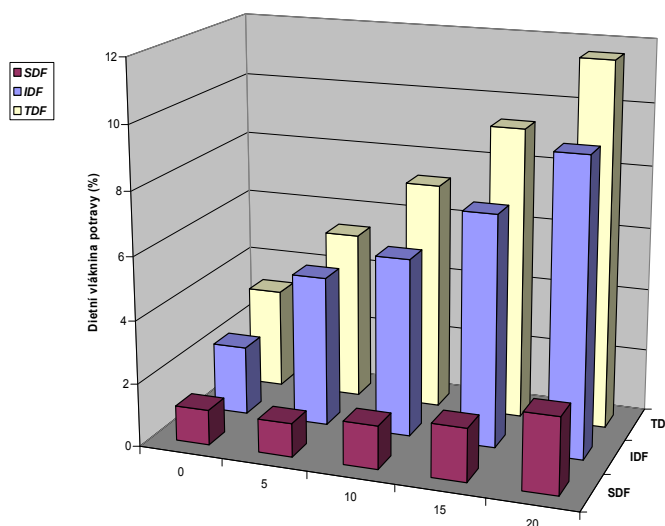
Tab. 2 ukazuje, že v porovnání s pšeničnou moukou byl ve všech kompozitních vzorcích s lupinou, amarantem a quinoou zjištěn vyšší obsah vlákniny. Nejlepším zdrojem byla lupina (39,4 %) s poměrem IDF:SDF 3,8:1 a testovaný vzorek směsi s pšeničnou moukou má také vlákniny nejvíce. Amarant a quinoa obsahovaly pouze průměrné množství TDF (16,8; 15,4 %) a i kompozitní směsi s 10 a 20% přídavkem obsahují méně SDF. Množství je srovnatelné s hodnotou zjištěnou v pšeničné mouce M. Pro uvedené plodiny uvádí odborná literatura jak vyšší tak i nižší naměřené hodnoty vlákniny (Callaway, 2004; Dimic et al., 2009; Alvarez-Jubete et al., 2010).

Vliv přídavku ječmene a konopných produktů v těstovinách

Obsah vlákniny potravy ve sledovaných druzích těstovin je znázorněn na Obr. 2. Těstoviny s ječmenem obsahují více všech forem vlákniny ve srovnání s pšeničnými. Vlivem fortifikace konopnými produkty došlo ke zvýšení obsahu TDF, kterou tvoří ze 2/3 nerozpustný podíl (IDF). Rozdíly jednotlivých druhů vlákniny v těstovinách způsobené přídavky konopných produktů nejsou průkazné, ale obsah jednotlivých složek je určen množstvím ječné mouky v receptuře.

Obsah vlákniny v netradičních přírodních produktech

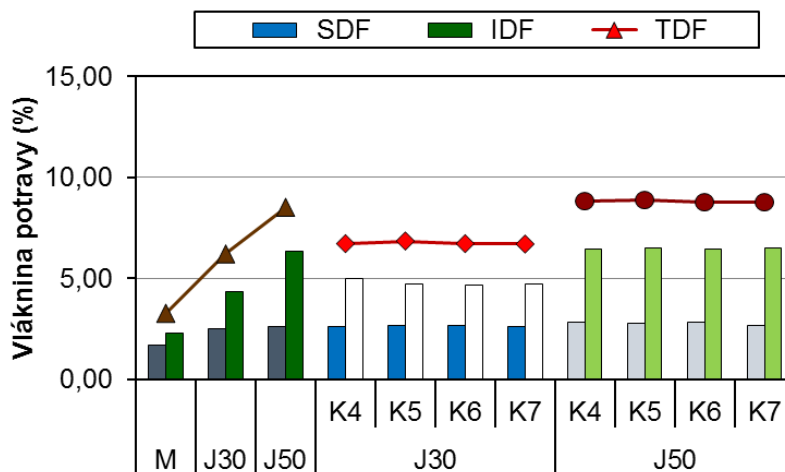
Pro cereální výrobky lze použít další rostlinné produkty, vyznačující se ve srovnání s pšeničnou moukou vysokým obsahem vlákniny potravy. Podle výsledků v Tab. 3 lze soudit, že dobrým zdrojem jsou semena chia bílé (CH 1) a tmavé (CH 2). Ve srovnání s moukou z tef je vyšší obsah vlákniny také ve vzorcích konopné mouky z loupáního (K1) i neloupáního (K2) semene. Pro



Obr. 1 Vláknina kompozitní směsi s lněnou vlákninou

Tab. 2. Vláknina ve vzorcích kompozitní směsi s moukami lupiny, amarantu a quinoi

	Přídavek (%)	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
M	-	2,3	1,2	3,4
M + A	10	3,0	1,8	5,1
	20	4,4	2,4	6,2
M + Q	10	2,7	1,2	4,5
	20	3,0	2,4	5,5
M + L	10	4,5	2,9	7,1
	20	6,5	3,4	9,8



Obr. 2 Vláknina v sušených těstovinách s přídavkem ječné mouky a konopných produktů

nopálovou (produkt z plodu Opuncie) a kaštanovou mouku (produkt z plodu kaštanu jedlého) byl zjištěn vysoký obsah IDF a TDF vlákniny.

Závěr

Výsledky aplikovaného výzkumu prokázaly, že celozrnné mlýnské výrobky a netradiční plodiny lze doporučit pro pšeničné mouky z hlediska nutričního obohacení vlivem zvýšeného obsahu vlákniny. Rozpustná a nerozpustná složka s odlišnými pozitivními účinky na prevenci civilizačních chorob je zastoupena diferencovaně. Lupina a chia byly vyhodnoceny jako dobré zdroje vlákniny s poměrem IDF:SDF, který se blíží doporučenému optimu. Lněná vláknina jako komerční produkt ve formě hladké mouky splňuje požadavek na fortifikaci mlýnských výrobků s možností jednoznačné deklarace zastoupení TDF. Největší množství SDF bylo zjištěno ve vzorcích semene konopí setého, chia a nopálu. Při užití v cereálních výrobcích je nutno vzít v úvahu, že z technologického i ekonomického hlediska je limitní přídavek do 10 %. Uvedenou skutečnost však vyvažuje zastoupení cereálních výrobků v každodenní spotřebě.

Tab. 3 Obsah vlákniny (%)

Vzorek	IDF	SDF	TDF
M	2,30	1,20	3,40
Tef 1	4,59	2,52	7,39
Tef 2	4,76	2,61	7,48
Konopí 1	5,49	4,02	11,92
Konopí 2	8,01	4,29	12,63
Chia 1	21,71	8,18	30,23
Chia 2	22,05	8,41	30,62
Nopál	-	-	71,38
Kaštan	10,47	2,17	13,52

Literatura

- Alvarez-Jubete L., Arendte K., Gallagher E. (2010): Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends Food Sci. Technol.*, 21, 106-113.
- Callaway J.C. (2004): Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*, 140, 65-72.
- Hofmanová T. (2011): Charakteristiky směsí vybraných druhů tuzemských obilovin. Diplomová práce, VŠCHT Praha.
- Hofmanová T., Švec I., Hrušková M. (2014): Nutritional properties of non-traditional seeds. *J. of Life Med.*, 2(1), 10-14.
- Hrušková M., Švec I., Jurinová I. (2013): Lněná vláknina – vliv přísadků na kvalitu pšeničné mouky. *Pekař a cukrář*, 2, 82-87.
- Hrušková M., Švec I., Jurinová I. (2013): Chemometrics of wheat composites with hemp, teff and chia flour-comparison of rheological features, *J. Food Sci.*, ID 968020, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/968020>.
- Jancurova M., Minarovičová L., Dandár D. (2009): Quinoa – a review. *Cz. J. Food Sci.*, 27, 71-79.
- Monhd Alin, Yeaps S.K., Ho W.Y., Beh B.K., Tan S.W., Tan S.G. (2012): The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *J. Biomed. Biotechnol.*, ID 171956, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/171956>.
- Švec I., Hrušková M. (2014): Flour, dough and bread properties of wheat/barley/hemp composite flour as affected by the barely and hemp content, *Cereal Technol.*, 3, 108-117.
- Reyes-Caudillo 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 Chem.*, 107, 656-663.

Práce byla vypracována v rámci projektu QI 111 B053.

R 13**TOPINAMBUR HLÍZNATÝ (*HELIANTHUS TUBEROSUS*) – ZDROJ INULINU PRO RŮZNÉ APLIKACE**

Krmela A., Schulzová V., Hajšlová J.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Inulin je zásobní látkou vyšších rostlin, jde o směs oligosacharidů a polysacharidů. Mezi jeho nejbohatší zdroje patří čekanka obecná (*Cichorium intybus*) a topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus*), lze jej však nalézt i v cibuli nebo česneku. Přestože je pro lidské tělo nevyužitelný, slouží jako prebiotikum, je totiž dobrým zdrojem energie pro střevní mikroflóru a podporuje tím její růst. Topinambur hlíznatý je tedy vhodnou potravinou pro diabetiky, jelikož inulin díky své nevyužitelnosti nezvyšuje hladinu cukru v krvi. Inulin prochází lidským organismem téměř beze změny a působí jako rozpustná vláknina. Nejčastějším důvodem přidávání inulinu do potravin je snížení celkové energetické hodnoty, navýšení rozpustné vlákniny a zlepšení textury výrobku. V potravinářském průmyslu je inulin také užíván jako senzorická náhrada cukru či tuku. V rámci prezentované studie byla vyvinuta metoda extrakce a kvantitativního stanovení inulinu technikou UPLC-ELSD (Evaporative Light Scattering Detector). Rovněž byla věnována pozornost identifikaci jednotlivých oligosacharidů a polysacharidů inulinu a studován rozdíl profilů oligosacharidů a polysacharidů v závislosti na zdrojové rostlině pomocí techniky UPLC-MS/MS. Bylo provedeno srovnání vzorků topinamburu hlíznatého (*Helianthus tuberosus*) z jarní a podzimní sklizně z hlediska obsahu volných sacharidů, vlastního inulinu a profilu oligosacharidů a polysacharidů v inulinu obsažených. Byl proveden ultrafiltrační experiment za účelem izolace oligosacharidů a polysacharidů o různé délce řetězce pro průmyslové využití.

R 15

ZNAKY PŠENIČNÉHO PEČIVA A TEXTURA VÝROBKŮ S PŘÍDAVKY KONOPÍ, CHIA A TEF

Švec I., Hrušková M., Burdová D.
Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT Praha

Souhrn

Přidavky netradičních plodin do pšeničné mouky patří v oblasti cereální chemie a technologie k současným trendům. Přínos těchto plodin je zlepšení nutričního profilu výrobků, ať již doplněním deficitních amino- a mastných kyselin, tak zvýšení obsahu vlákniny potravy a minerálních látek. V rámci grantu NEW FOOD bylo připraveno pečivo podle receptur, kombinujících pšeničnou a ječnou mouku (70:30) a premix s 5 a 10 % konopné, chia a tef mouky. Forma přídatku konopí byla celozrnná z loupaného semene a odtučněná mouka (K4, K6), v případě chia celozrnná mouka z bílých a černých semen (CH1, CH2). Tef mouky byly průmyslově vyrobeny semletím bílých a hnědých semen (T1, T2). Ječná mouka snížila měrný objem pečiva o 30% (z 324 na 228 ml/100 g), zhoršila klenutost výrobku a dvojnásobně zvýšila tuhost střídy. Přidavky konopných produktů měly na objem vzájemně opačný trend – K4 objem zvyšovala a K6 snižovala, ovšem tvar výrobku se v obou případech mírně zlepšil (poměr 0,53 a 0,57). Velikost bulek s ječmenem a chia byla významně horší než s konopnou moukou (průměrně 172 ml/100 g). Tvar těchto výrobků byl klenutější, poměrová čísla byla vypočtena v rozmezí 0,59-0,68 s pozitivním vlivem vyššího přídatku. V případě tef mouk se objemy pečiva nelišily od hodnoty pšenično-ječného standardu (179-226 ml/100 g), bulky byly charakteristické poloviční výškou proti svému průměru (poměr 0,42). Penetrace střídy pečiva s tef byla mírně vyšší než v případě přídatků chia (5,65 mm a 4,33 mm) – hodnoty pod 10 mm signalizují hutnou střídu. Ječná a 10 % obou konopných mouk změnily průměrnou plochu póru (z 2,83 mm² na 1,92, resp. 2,69 a 1,92 mm²), a také hustota pórů se změnila průkazně (19 pórů/cm² proti 25, resp. 22 a 25 pórů/cm²). Chia mouky jako 10% přídatek se ve svém vlivu také lišily (2,02 vs. 1,39 cm² a 24 vs. 26 pórů/cm²). Stejně podíly tef mouk měly na texturu pečiva nejsilnější vliv – střední plocha klesla na 1,17-1,45 cm² a počet pórů se naopak zdvojnásobil (24-33 pórů/cm²).

Klíčová slova: pšeničná a ječná mouka, konopí, chia, tef, znaky pečiva, obrazová analýza

Úvod

Potenciál netradičních plodin v pekařském průmyslu spočívá jednak v možnosti rozšíření sortimentu, tak ve zvýšení nutriční hodnoty zejména chleba a pečiva. Ječná mouka měla své kulinární uplatnění, v poslední době se ke spotřebitelům vrací v podobě pekařských výrobků z fermentovaného těsta. Také chia semena jsou již výrobcům nabízena jako hotová směs, zatímco konopná a tef mouka své uplatnění dosud nenašly. Přes zvýšení výživové hodnoty pečiva tyto netradiční plodiny modifikují viskoelastické chování těsta a ovlivňují výsledek pekařského pokusu. Cílem fortifikace je dosáhnout výrobek kvalitou srovnatelný s tradičním pšeničným, ovšem s důrazem na vyšší spotřebitelskou kvalitu a minimální změny v technologii výroby.

Ječmen (*Hordeum vulgare* L.) je využívám jako hospodářské krmivo a zdroj zkrasitelných cukrů při výrobě piva a některých destilátů. Studie Newman R.K. a Newman C.W. (2008) uvádí možnost regulovat hladinu krevního cukru konzumací celozrnných ječných výrobků. Také ječná vláknina je lidskému zdraví prospěšná (obsah β -glukanů), pomáhá redukovat hladinu cholesterolu v krvi a tak snižuje riziko srdečně-cévních onemocnění.

Konopí (*Cannabis culta*) obsahuje významné množství β -karotenu a vitamínů B₁ a E. Z minerálních látek je přínosem vyšší obsah železa a zinku (Peč a Dušek, 2008). Konopné bílkoviny jsou z cca dvou třetiny tvořeny edestinem, patřící mezi nízkomolekulární globuliny. Ve srovnání s pšeničnou moukou byl prokázán vyšší podíl argininu a histidinu.

Chia (*Salvia hispanica* L.) semena bílé nebo černé barvy jsou hodnotná vysokým obsahem tuků včetně nenasycených mastných kyselin, zastoupení lehce stravitelných bílkovin, rozpustné vlákniny a minerálních látek (vápník, železo, zinek, fosfor, hořčík; Reyes-Caudillo et al., 2008;

Luna Pizzaro et al., 2013). Pro směs s pšeničnou moukou Inglett et al. (2013) uvádějí, že 10% přídavek chia nemá průkazný vliv na viskozitu ani elasticitu těsta. Přídavek chia do pšeničné mouky zeslabuje lepkovou kostru a způsobuje pokles objemu pečiva až o 25 % při přídávku 5 a 10 % chia (Ortega-Ramirez et al., 2013). Její použití v potravinářském průmyslu bylo v rámci EU povoleno v roce 2009, současný limit pro pekařské výrobky je 10 %.

Tef (*Eragrostis tef*) celozrnná mouka se původně používá pro výrobu placek a piva. Je charakteristická vyšším obsahem nerozpustných polysacharidů a bílkovin nelepkového charakteru s vyšším podílem lysinu. Z hlediska nutričního přínosu je uváděn vysoký podíl železa, vápníku, fosforu a mědi a vitamínu B₁. Složení mlýnských výrobků z tef má vliv na chování směsi s pšeničnou moukou při zpracování (Alaunyte et al., 2012). Testované mouky z netradičních plodin lze označit jako přirozeně bezlepkové, a proto vhodné pro osoby trpící celiakií.

Cílem práce bylo zhodnotit vliv ječné, konopné, chia a teff celozrnné mouky na výsledek pekařského pokusu včetně dopadu na texturu střidy. S výjimkou ječné mouky byly netradiční plodiny testovány ve dvou variantách.

Materiál a metody

V práci byly hodnoceny kompozitní směsi z hladké pšeničné a ječné mouky (70:30, w/w, zkratka MJ30; mlýn Delta Praha, resp. mlýn Křesín). Konopná mouka K4 byla získána desintegrací loupáných semen pomocí mlýnku Concept KM 5001, mouka K6 je průmyslově vyrobená po lisování oleje. Chia semena v bílé a černé (CH1, CH2) botanické variantě původem z Mexika byla také laboratorně semleta na celozrnnou mouku. Celozrnné tef mouky z bílých a hnědých semen (T1, T2) mají původ v Etiopii, dodavatelem je firma Tobia Teff UK. Přídatky byly zvoleny jako 5 a 10 % na pšenično-ječný premix, zkratky tvoří kombinace označení plodiny a výše přídatku (např. CH2.05). Pečivo bylo připraveno a hodnoceno podle interních postupů Cereální laboratoře VŠCHT Praha (měrný objem, tvar pečiva, penetrace střidy). Technikou analýzy obrazu byla kvantifikována textura střidy výrobků. Získaná data byla statisticky hodnocena Tukeyovým testem a metodou PCA (program Statistica 7.1, Tulsa, USA).

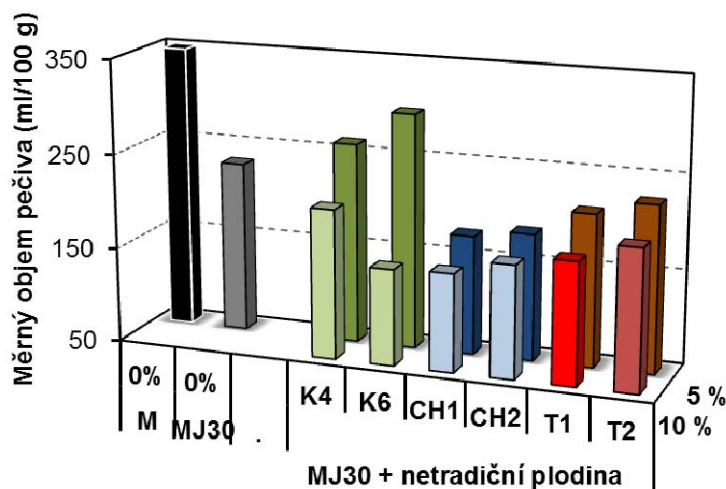
Výsledky a diskuse

Charakteristiky kompozitních vzorků

Kvalita základní pšeničné mouky M je podle obsahu bílkovin 13,8 % a hodnoty Zeleného testu 47 ml (kvalita bílkovin) nadprůměrná. Pekařská kvalita bílkovin se však snížila jak ječnou, tak ostatními moukami (30 ml pro MJ30, 19 ml pro K6.10, 22 ml pro s 10 % CH1.10 a 26 ml pro T2.10). Číslo poklesu jako míra poškození škrobu je pro M průkazně vyšší než empirické optimum 250 ± 25 s; v případě pšenično-ječné směsi došlo k mírnému snížení. Pro testované kompozitní směsi byl naopak pozorován neprůkazný pokles v případě konopných mouk a slabý nárůst v případě přídatků chia a tef (data neuvedena).

Pekařský pokus s kompozitními moukami

Měrný objem i tvar pšeničného pečiva z laboratorního pokusu lze označit za standardní (Obr. 1, Tab. 1). Přídatkem 30 % ječné mouky došlo ke snížení měrného objemu o cca 35 %. Vliv mouk byl opačný – K4 objem zvýšila o 30 a 60 jednotek, zatímco K6 objem výrobků průkazně snižovala. Přídavek chia také neměl pozitivní vliv, další snížení velikosti bulky bylo v rozsahu 24-33 % (proti pšenično-ječnému pečivu) – nelze průkazně



Obr. 1 Vliv 30% přídatku ječné mouky (MJ30) a mouk z netradičních plodin (K – konopí, CH – chia, T – tef) na měrný objem pečiva

odlišit vzorky výrobků obsahující chia mouku z bílých nebo černých semen. Na rozdíl od závěrů Alaunyte et al. (2012), snížení měrného objemu přídavkem tef mouk bylo průkazné.

Tvar pečiva ze všech testovaných kompozitních směsí byl méně klenutý (v/d 0,40-0,58), což lze přisoudit vysokému podílu ječné mouky v testovaných recepturách. Pouze 10 % CH1 i CH2 tvar statisticky významně zlepšilo (v/d 0,63 a 0,68). Ve shodě s měrným objemem se snižovala i míra penetrace, tj. narůstala hutnost střídy. Ječná mouka v receptuře způsobila pokles pružnosti střídy o 60%, a pouze přídavky K4 tento vliv kompenzovaly (Tab. 1). Střída ostatních obohacených vzorků s hodnotami nižšími než 10 mm byla velmi tuhá a víceméně spotřebitelsky nepřijatelná.

Tab. 1 Jakostní znaky pečiva (P = 95 %)

Vzorek	Přídavek (%)	Tvar pečiva (1)	Penetrace střídy (mm)
M	0	0,60 cd	14,1 cd
MJ30	0	0,56 cd	5,7 a
MJ30	+ K4 5	0,54 c	9,3 c
	10	0,57 cd	9,7 cd
	+ K6 5	0,53 bc	4,9 bc
	10	0,58 cd	3,8 cd
	+ CH1 5	0,59 cd	4,5 cd
	10	0,63 de	4,3 de
	+ CH2 5	0,59 cd	4,4 cd
	10	0,68 e	3,8 e
	+ T1 5	0,42 a	5,5 a
	10	0,40 a	6,1 a
	+ T2 5	0,46 ab	5,6 ab
	10	0,42 a	5,7 a

Analýza textury střídy obohaceného pečiva

Změny v morfologii střídy odpovídají trendům zaznamenaným pro měrný objem a penetraci; pro nástin změn byly vybrány dva základní znaky (průměrná plocha póru, hustota pórů) z pěti sledovaných. Nejméně pórů s největší průměrnou plochou bylo podle očekávání zjištěno pro pšeničné pečivo (18 pórů na cm² a 2,82 mm²), 30 % ječné mouky hustotu pórů zvýšilo na 25 a jejich plocha klesla o cca 1 mm² (Tab. 2). Zlepšení makroznaků pečiva (měrný objem, penetrace) s konopnou moukou K4 je založeno na struktuře střídy podobné pšeničnému pečivu – hustota pórů se změnila minimálně a průměrné plochy pórů byly větší než 2 mm². Podobný efekt měl vyšší přídavek mouky z bílých semen chia (CH1), ostatní netradiční suroviny morfologii střídy primárně zhoršily. Variabilita počtu pórů na jednotku plochy byla větší než pro průměrnou plochu póru, ovšem rozdíly v obou znacích byly pro vzorky s CH2, T1 a T2 statisticky neprůkazné i přes mírné zlepšení vlivem vyššího přídavku (Tab. 2). Morfologie střídy pečiva z pšeničné mouky se 10% přídavkem tef se průkazně nezměnila – celkový počet pórů klesl o 8 % a průměrná plocha póru se zvětšila o 3 % (Alaunyte et al., 2012).

Tab. 2 Základní parametry textury pečiva (P = 95 %)

Vzorek	Přídavek (%)	Průměrná plocha póru (mm ²)	Hustota pórů (1/cm ²)
M	0	2,82 d	18 a
MJ30	0	1,92 abcd	25 abc
MJ30	+ K4 5	2,35 bcd	18 a
	10	2,69 cd	22 ab
	+ K6 5	2,11 abcd	21 ab
	10	1,90 abcd	25 abc
	+ CH1 5	1,72 abcd	26 abc
	10	2,02 abcd	24 abc
	+ CH2 5	1,25 ab	32 bc
	10	1,39 ab	26 abc
	+ T1 5	1,42 ab	29 bc
	10	1,45 ab	24 abc
	+ T2 5	1,17 a	31 bc
	10	1,38 ab	33 c

Korelační analýza

Závislost kvalitativních znaků pečiva jako měrný objem, plocha řezu a tuhost střídy na vnitřní stavbě výrobků, tj. morfologii střídy, se potvrdila lineární korelační analýzou. Z celkového počtu 36 párových korelací se jako neprůkazných ukázalo 9, zejména s tvarem pečiva (Tab. 3). Data potvrzují reprezentativnost popisu střídy pomocí průměrné plochy a hustoty pórů (všechny korelace průkazné s chybou 5 %).

Tab. 3 Korelace mezi parametry pečiva a textury střídy

Charakteristika		I	H	G	F	E	D	C	B
Měrný objem pečiva	A	0,54	-0,64	0,78	-0,48	0,68	0,73	0,90	ns
Tvar pečiva	B	ns	ns	ns	ns	0,44	0,46	ns	
Penetrace střídy	C	0,44	-0,58	0,71	-0,39	0,66	0,76		
Plocha řezu pečivem	D	0,65	-0,63	0,83	ns	0,90			
Celková plocha pórů	E	0,81	-0,63	0,88	ns				
Celkový počet pórů	F	ns	0,88	-0,67					
Prům. plocha póru	G	0,68	-0,86						
Hustota pórů	H	-0,37							
Relativní podíl pórů	I	1							

P = 95 %, r = 0,35
P = 99 %, r = 0,45
ns - neprůkazné

Závěr

Pšeničná mouka patří k základním složkám pekárenských výrobků a její nutriční nedostatky mohou být kompenzovány přísadami netradičních plodin v souvislosti s požadavky na "zdravější" stravu. Obohacení receptury těmito surovinami však ovlivňuje technologické chování těsta a výsledek pekařského pokusu, proto je při navrhování nových receptur nutno tuto skutečnost zohlednit.

Charakteristiky pšeničného pečiva připraveného podle základní receptury (měrný objem 349 ml/100 g, penetrace střídy 14,1 mm) svědčily o dobré pekařské kvalitě pšeničné mouky, která byla základem pro modelové směsi. Morfologie střídy těmito hodnotám odpovídala, hustota pórů byla nejmenší a střední plocha naopak největší (18 pórů/cm², 2,82 mm²). Přídavek ječné mouky jako 30% podíl snížil objem výrobku o třetinu a penetraci o dvě třetiny; atributy pórovitosti se změnilo také o cca 33 %. Potenciál kompenzovat negativní trend způsobený ječnou moukou byl prokázán pro mouky z loupaného konopného a bílého chia semene. Mouky z konopných pokrutin, černých chia semen a oba typy teff celozrnné kvalitu laboratorně připravených bulek snížily. Korelační analýza potvrdila vztah makroznaků pečiva s parametry střídy.

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. J. Cereal Sci., 55(1), 22-30.
- Inglett G.E., Chen D., Xu J., Lee S. (2013): Pasting and rheological properties of chia composites containing barley flour. Internat. J. Food Sci. Technol., 48(12): 2564-2570.
- Luna Pizzaro P., Lopes Almeida E., Sammán N.C., Chang Y.K. (2013): Evaluation of whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour and hydrogenated vegetable fat in pound cake. LWT - Food Sci. Technol., 54: 73-79.
- Newman R.K., Newman C.W. (2008): Barley for food and health: Science, technology, and products. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, USA. p. 178-194. ISBN 978-0-470-10249-7.
- Ortega-Ramirez R., Leyva-García D. I., Sanchez-Robles R. M., Morales-Ortega A. (2013): Effect of addition of amaranthus, chia and wheat bran on bread. Sborník abstrakt (Brijs K., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., eds.), C&E Spring Meeting: Unlocking the full potential of cereals: challenge for science based innovation, Leuven, Belgium, 29. - 31. May 2013, str. 127.
- Peč J., Dušek J. (2008): Složení a využití konopného oleje se zaměřením na terapeutické účinky esenciálních mastných kyselin. Praktické lékařství, 4, 86-89.
- Reyes-Caudillo 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.

Práce byla vypracována v rámci projektu QI 111 B053.

R 16**MYKOTOXINOVÁ KONTAMINACE CEREÁLNÍCH VÝROBKŮ Z ČESKÉHO TRHU**

Džuman Z., Slavíková P., Vepříková Z., Zachariášová Z., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Úvod

Cereální výrobky představují základ jídelníčku většiny obyvatel, avšak mimo zdraví prospěšné sacharidy, vlákninu, minerální látky, apod. mohou obsahovat celou řadu kontaminantů. Mezi nejčastější kontaminanty cereálií patří bezesporu mykotoxiny, toxické sekundární metabolity vláknitých mikromycet r. *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* a dalších.¹ Mykotoxiny jsou širokou skupinou často toxických nízkomolekulárních sloučenin, jichž je v současné době známo více než 300 a toto číslo se stále zvyšuje.² Vzhledem k jejich značné stabilitě prokázané mnoha studiemi, kdy např. nijak výrazně nedegradují ani při aplikaci teplot dosahujících 200°C nebo nejsou odstraněny během výrobního procesu kontaminované části plodiny či meziprojektu (mykotoxiny v mlátu, otrubách, apod.), se mohou mimo samotné plodiny vyskytovat na podobných hladinách i ve finálních potravinách.³

V rámci této studie byl analyzován široký soubor cereálních výrobků z českého maloobchodního trhu zahrnující pečivo, snídaňové cereálie, ad., na přítomnost 57 mykotoxinů, a to jednak legislativně ošetřených, tak toxinů, o jejichž výskytu a kontaminaci mnohých surovin a potravin není v současné době dostatek informací a proto jsou na základě výzev („calls for data“) shromažďována Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA).⁴ Pro analýzu mykotoxinů byla využita zavedená multi-detekční analytická metoda založená na ultra-účinné chromatografické separaci (U-HPLC) a tandemové hmotnostní spektrometrii (MS/MS). Výsledná data byla zpracována mj. ve vztahu k maximálním limitům (ML) pro jednotlivé komodity a také tolerovatelnému dennímu příjmu daného mykotoxinu (TDI) vyjadřující celkové množství toxinu přijatého ve stravě.^{5,6}

Uvedená studie byla uskutečněna za finanční podpory projektu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky QI111B044 a podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 20/2015.

Cíl studie

Cílem studie byla analýza 57 mykotoxinů v širokém spektru vzorků nejen s cereálním základem z maloobchodní sítě ČR s využitím ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC–MS/MS).

Chemikálie, materiál, instrumentace

- methanol, HPLC gradient, *Merck (Německo)*
- acetonitril, HPLC gradient, *Sigma Aldrich (ČR)*
- mravenčan amonný p.a., *Sigma Aldrich (ČR)*
- octan amonný p.a., *Sigma Aldrich (ČR)*
- kyselina mravenčí 99%, *Sigma Aldrich (ČR)*
- síran hořečnatý p.a., *Sigma Aldrich (ČR)*
- chlorid sodný p.a., *Penta (ČR)*
- certifikované analytické standardy mykotoxinů, *Sigma Aldrich (ČR)*, *Dynex Technologies (ČR)*
- PTFE kyvety (50 ml), *Merci (ČR)*
- běžné laboratorní sklo, *Simax (ČR)*
- kapalinový chromatograf Acquity UPLC System (*Waters, USA*) ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem QTRAP 5500 (*AB Sciex, Kanada*)

Vzorky:

Pro analýzu mykotoxinů bylo zakoupeno celkem 128 vzorků z maloobchodní sítě ČR. Analyzované vzorky byly podle své povahy rozděleny do čtyř skupin, a to na (i) *běžné a trvanlivé pečivo* (73 vzorků), (ii) *mouky* (20 vzorků), (iii) *snídaňové cereálie* (14 vzorků) a variabilnější skupinu (iv) *pochutin* (21 vzorků) zahrnující popcorn, kukuřičné chlebičky a ořechy.

Příprava vzorku

Vzorky pečiva byly před extrakcí vysušeny v sušárně při 40°C po dobu 12 hodin a poté zhomogenizovány s využitím laboratorního mlýnku. Pro izolaci mykotoxinů analytů byla využita optimalizovaná extrakční metoda založená na optimalizovaném přístupu QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe). 2 g vzorku bylo naváženo do 50 ml kyvety, následně bylo přidáno 10 ml okyselené vody (0,2% kyselina mravenčí). Vzorky s vysokým obsahem tuku byly před-extrahovány 3 ml hexanu, který byl ke vzorku přidán ve stejném kroku. Pro smočení matrice (30 min) bylo přidáno 10 ml acetonitrilu a vzorek byl na laboratorní třepačce extrahován po dobu 30 min. Po extrakci vzorku byly přidány 4 g MgSO₄ a 1 g NaCl, vzorek byl intenzivně protřepán po dobu 1 min, odstředěn (5 min, 10.000 RPM), extrakt odebrán do vialky a takto připraven k analýze.

Instrumentální analýza

Pro vlastní analýzu mykotoxinů byla využita na Ústavu analýzy potravin a výživy akreditovaná metoda pro 57 mykotoxinů využívající instrumentace sestávající se z ultra-účinného kapalinového chromatografu Acquity UPLC System a tandemového hmotnostního spektrometru QTRAP 5500. Chromatografické a hmotnostně-spektrometrické podmínky jsou shrnuty níže (**Tab. I a II**).

Tab. I: Charakteristiky ultra-účinné kapalinové chromatografie (U-HPLC)

Mód polarity	ESI+				ESI-			
Mobilní fáze	A1: 5 mM mravenčan amonný (0,2% kyselina mravenčí) B1: methanol (0,2% kyselina mravenčí)				A2: 5 mM octan amonný B2: methanol			
Gradient mobilní fáze	čas [min]	průtok [ml/min]	A1 [%]	B1 [%]	čas [min]	průtok [ml/min]	A2 [%]	B2 [%]
	0	0,25	90	10	0	0,30	90	10
	1	0,25	50	50	1	0,30	50	50
	4	0,30	45	55	6	0,40	20	80
	8	0,50	0	100	6,5	0,50	0	100
	10	0,50	0	100	8,5	0,50	0	100
	10,1	0,40	90	10	8,6	0,45	90	10
	12	0,30	90	10	10,5	0,35	90	10
Kolona	Kinetex C18 (100 x 2.1 mm, 2.7 µm; Phenomenex, USA)							
Teplota kolony	40°C							
Teplota autosampleru	10°C							
Objem nástřiku	3 µl							

Tab. II: Hmotnostně-spektrometrické podmínky měření (MS/MS)

Ionizace	ESI+/-	
Detekční mód	MRM	
MRM detekce	60 s	
Napětí na elektrospreji	+/- 4500V	
Teplota zdroje	ESI+	600°C
	ESI-	500°C

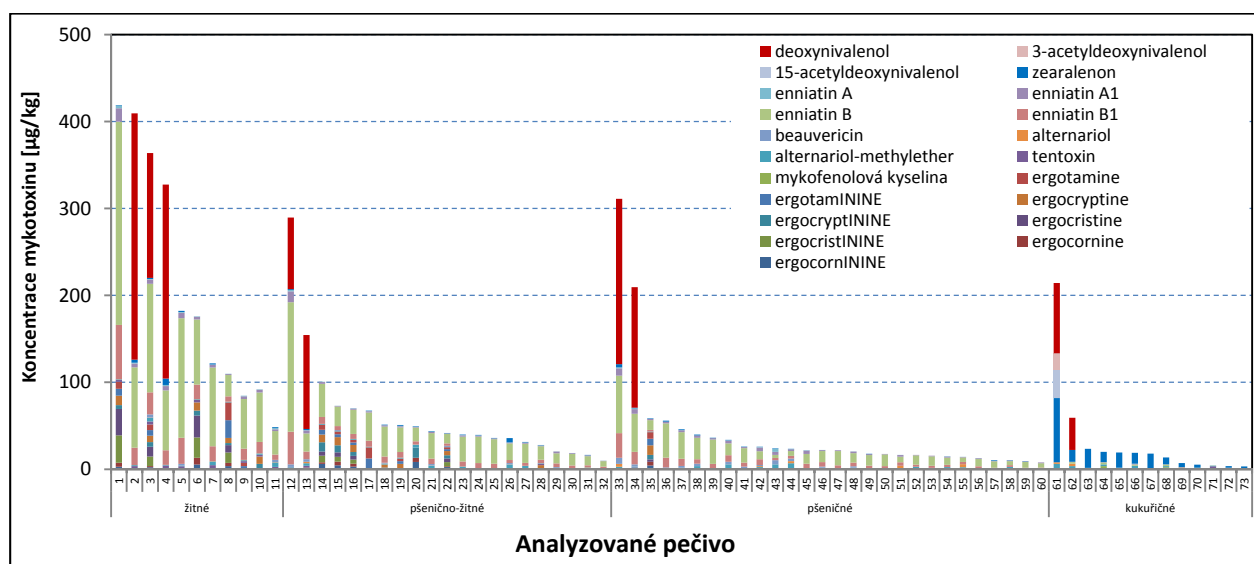
Výsledky a diskuze

Z celkového počtu 57 stanovovaných mykotoxinů jich bylo ve 128 analyzovaných vzorcích z českého trhu detekováno 39 (58 %). Pouze 3 (2%) vzorky z tohoto vyšetřovaného souboru jich bylo prosté mykotoxinové kontaminace. Dílčí dosažené výsledky společně s nejdůležitějšími závěry jsou diskutovány v následujících kapitolách.

1) *Běžné a trvanlivé pečivo*

Ve vzorcích analyzovaného pečiva (73 vz.) bylo detekováno 21 mykotoxinů z 57 (37%), přičemž u každého vzorku byly detekovány alespoň 2 mykotoxiny. Mezi mykotoxiny s nevyšší frekvencí výskytu patřil alternariol-methylether (průměrná koncentrace 1,8 µg/kg), enniatiny A, A1, B a B1 (0,5 - 29,9 µg/kg) a zearalenon (4,4 µg/kg). Přehled celkové mykotoxinové kontaminace je uveden na **Obr. 1**.

Chléb a ostatní běžné pečivo vykazovalo velmi podobnou míru kontaminace, zatímco při srovnání pečiva dle typu použité obiloviny lze soudit, že nepatrně vyšší kontaminace byla zaznamenána u pečiva žitného, dále pak srovnatelně u pšeničného a pšenično-žitného a nejméně pak u pečiva kukuřičného, což nebylo očekáváno vzhledem časté kontaminace kukuřice a kukuřičných výrobků např. deoxynivalenolem a zearalenonem. Stejně tak by se dala konstatovat nižší kontaminace bezlepkového pečiva reprezentované v tomto případě pouze pečivem kukuřičným. Legislativním požadavkům nevyhověl pouze jeden analyzovaný vzorek (č. 51), kdy koncentrace zearalenonu překročila maximální limit o 48% (73,8 µg/kg). Tolerovatelný denní příjem nebyl naplněn z ani pro jeden z analyzovaných vzorků, pokud by byly jako reference vzaty průměrný konzument o hmotnosti 70 kg a dvě porce pečiva o hmotnosti 100 - 120 g. Z detekovaných mykotoxinů deoxynivalenolu a zearalenonu, pro které je TDI stanoveno, bylo dosaženo maximální hranice 61 a 79% TDI u vzorků č. 2 a 61.

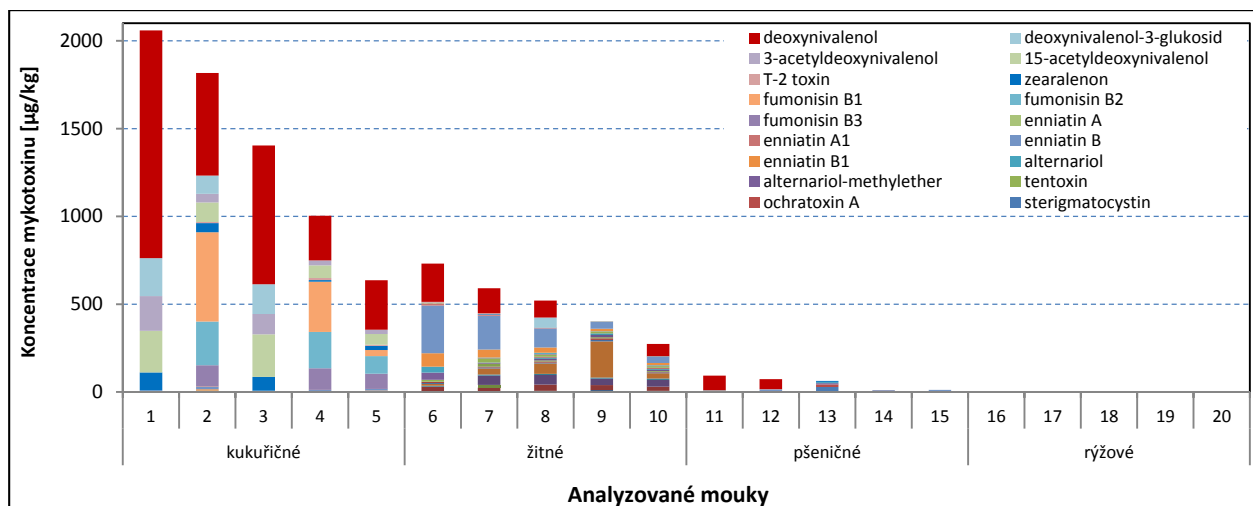


Obr. 1: Celková mykotoxinová kontaminace pečiva

2) *Mouky*

Celková kontaminace analyzovaných mouk (20 vz.) byla výrazně vyšší ve srovnání s pečivem, což je shrnuto na **Obr. 2**. Nejširší spektrum 30 detekovaných mykotoxinů (53%) bylo z analyzovaných skupin vzorků detekováno právě v případě mouk, kdy byly u každého ze vzorků detekovány alespoň 2 analyty. Mykotoxiny s nejvyšší frekvencí výskytu byly alternariol-methylether, zearalenon a enniatin B s průměrnými koncentracemi 3,7, 17,3 a 47,8 µg/kg. Nejvyšší kontaminace byla zaznamenána v kukuřičné mouce následované moukami žitnými, pšeničnými a rýžovými. Bezlepkové mouky jsou v tomto případě reprezentovány moukami kukuřičnými a rýžovými.

Z pohledu legislativy nevyhovělo maximálním limitům hned 5 vzorků (vz. č. 1, 3, 8, 10 a 13), kdy došlo k překročení maximálních limitů v 7 případech, 2-krát zároveň pro deoxynivalenol a zearalenon a 3-krát pro ochratoxin A. Tolerovatelný denní příjem byl překročen ve 4 případech, a to 3-krát v případě deoxynivalenolu a jednou zearalenonu (překročení v rozmezí 1 - 122%), pokud bychom jako referenci vzali 80 g mouky potřebné pro přípravu 100 g pečiva. Toto je poněkud negativní zjištění, obzvláště pokud by byl vzat v potaz fakt, že existuje řada dalších dietárních zdrojů a celková expozice mykotoxinům by pak mohla být i výrazně vyšší.

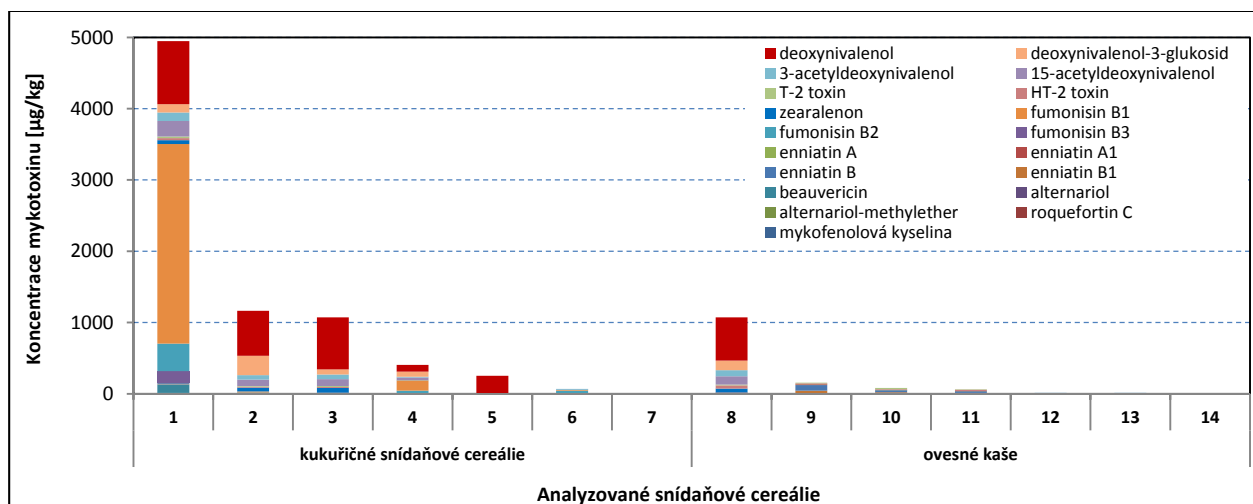


Obr. 2: Celková mykotoxinová kontaminace mouk

3) *Snídaňové cereálie*

14 analyzovaných vzorků snídaňových cereálií vykazovalo v několika případech poměrně vysokou kontaminaci, jejíž souhrn je uveden na **Obr. 3**. Celkem bylo detekováno 19 mykotoxinů (33%), u každého ze vzorků byly detekovány alespoň 2 mykotoxiny. Nejčastěji byly detekovány mykotoxiny alternariol-methylether, enniatin B a beauvericin s průměrnými koncentracemi 1,6, 13,5 a 14,0 µg/kg. Z pohledu typu snídaňové cereálie byly více kontaminovány cereálie kukuřičného původu ve srovnání s ovesnými.

Legislativním požadavkům na maximální limity nevyhověly 4 vzorky, ve dvou případech došlo k překročení maximálního limitu pro deoxynivalenol (překročení o 26 a 46%), v dalším pak pro deoxynivalenol i zearalenon (5 a 21%) a v nejvíce kontaminovaném pak deoxynivalenol a suma fumonisinů B1 a B2 (77 a 298%). V tom samém vzorku byl překročen též doporučený limit pro sumu T-2 a HT-2 toxinů (8%). I přes vyšší kontaminaci některých vzorků snídaňových cereálií nedošlo k překročení TDI ani pro jednu kombinaci mykotoxin-vzorek z důvodu nižšího doporučeného dávkování, nejvyšších hodnot „vyčerpání“ TDI bylo dosaženo shodně 88% pro deoxynivalenol a sumu HT-2 a T-2 toxinů u vzorků č. 1 a 8.



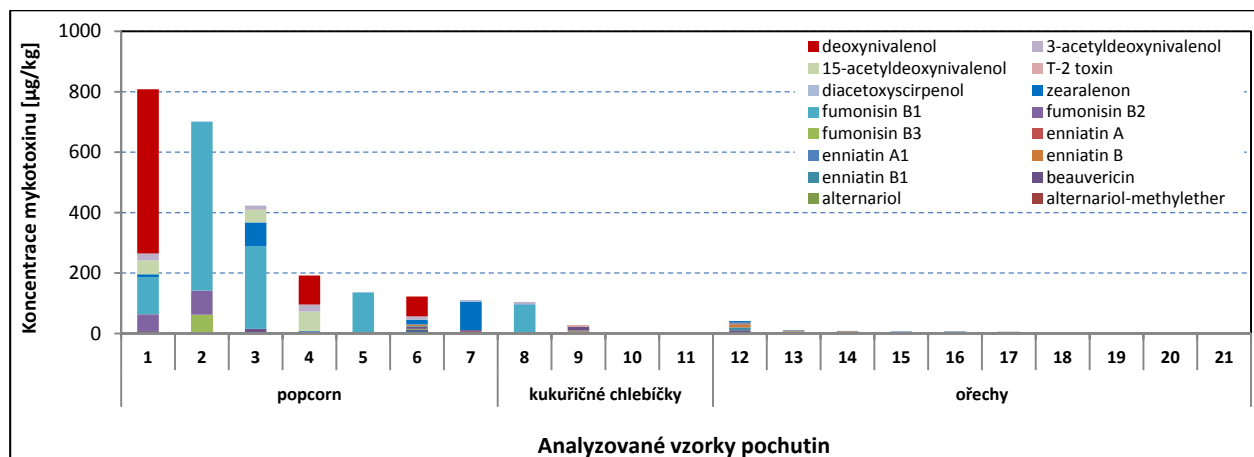
Obr. 3: Celková mykotoxinová kontaminace snídaňových cereálií

4) *Pochutiny*

Vzorky pochutin reprezentované 21 vzorky popcornu (7 vz.), kukuřičných chlebičeků (4 vz.) a ořechů (10 vz.) patřily mezi nejméně kontaminované z analyzovaných skupin vzorků (**Obr. 4**). Nejméně kontaminovanými vzorky z této skupiny pak byly ořechy, mezi kterými byly i 3 vzorky

bez jakékoliv kontaminace. Celkem bylo detekováno 17 mykotoxinů (30%) na relativně nízkých hladinách, za zmínku stojí frekventovanější výskyt alternariol-methyletheru a beauvericinu s průměrnými koncentracemi 2,2 a 4,1 µg/kg.

Maximální limity nebyly v případech vzorků pochutin překročeny ani v jednom případě. Stejně tak nedošlo k překročení TDI ani pro jeden vzorek a mykotoxin, pokud bychom brali v potaz doporučené dávky specifikované výrobcí. K výraznějšímu „naplnění“ TDI došlo jen v případě popcornu a mykotoxinů deoxynivalenolu (78%, vzorek č. 1) a zearalenonu ve dvou případech (56 a 68%, vzorky č. 3 a 7), což je ale i tak poněkud negativní zjištění ve smyslu nikterak zásadní role této pochutiny v lidské výživě.



Obr. 4: Celková mykotoxinová kontaminace vzorků pochutin

Závěr

V rámci provedené studie byla zjištěna poměrně vysoká kontaminace vzorků převážně cereálního původu nakoupených v maloobchodní síti ČR. V analyzovaných vzorcích bylo celkem detekováno 39 z 57 analyzovaných mykotoxinů a pouze 3 vzorky z 128 byly prosté kontaminace. Mezi nejvíce kontaminovanými vzorky byly mouky a snídaňové cereálie následované pečivem a nejméně kontaminovanou skupinou vzorků pochutin. Toto zjištění se projevilo po kalkulaci naplnění tolerovatelných denních příjmů pro danou kombinaci mykotoxin a vzorek, kdy došlo v řadě případů nejen k jejich dosažení, ale výraznému přečerpání i v řádu stovek procent, což je velmi negativní vzhledem k dietární expozici z mnoha zdrojů. Celkem 10 vzorků (8%) nevyhovělo požadavkům legislativy na maximální limity, k překročení došlo celkem v 15 případech, a to u především u mykotoxinů deoxynivalenolu a zearalenonu, po jednom případě pak u sumy fumonisinů B1 a B2 a toxinů HT-2 a T-2.

Literatura

1. Hussein S.H., Brasel J.M.: *Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals*. Toxicol. 167 (2001): 101.
2. Council for Agricultural Science and Technology (2003). *Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems*. Task force report No. 139.
3. Bullerman L.B., Bianchini A.: *Stability of mycotoxins during food processing*. Int. J. Food Microbiol. 119 (2007): 140-146.
4. Evropský úřad pro bezpečnost potravin. *Výzva pro kontinuální sběr dat ohledně výskytu kontaminantů v potravinách a krmivech*. <http://www.efsa.europa.eu/en/data/call/datex101217.htm>. Přístupné 18. 6. 2015.
5. Evropská Komise. *Přehled Evropské legislativy pro mykotoxiny*. <https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/mycotoxins/legislation>. Přístupné 18. 6. 2015.
6. Evropská Komise (2006). *Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách*. Úřední věstník Evropské unie.

R 17**ENNIATINY, „NOVÉ“ TOXICKÉ METABOLITY VLÁKNITÝCH PLÍSNÍ RODU *FUSARIUM***

Vepřiková Z., Džuman Z., Slavíková P., Hajšlová J., Zachariášová M.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, zdenka.veprikova@vscht.cz

ÚVOD

Zemědělská produkce je z hlediska zdravotní nezávadnosti významně ovlivňována výskytem mikroskopických vláknitých hub a toxických produktů jejich sekundárního metabolismu, mykotoxinů. Mezi nejvíce náchylné plodiny k infekci mikromycetami patří především cereálie, které tak mohou být kontaminovány mykotoxiny jak v průběhu vegetace, tak při nevhodném skladování. Toxiny produkované mikromycetami rodu *Fusarium* patří v našich klimatických podmínkách k těm nejčastěji se vyskytujícím. Kromě regulovaných fusariových mykotoxinů (Nařízení (EC) č. 1881/2006) jako je deoxynivalenol nebo zearalenon jsou v posledních letech nově sledovány enniatiny, které dříve byly analyzovány zejména ve skandinávských zemích, ovšem se změnou teplotních podmínek podnebí došlo k rozšíření těchto toxinů i v našich podmínkách. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority, EFSA) v roce 2010 oslovil členské země ohledně shromažďování dat o těchto toxinech („EFSA calls for data“).

Prezentovaná studie byla zaměřená na posouzení kontaminace obilnin enniatiny vůči jiným mykotoxinům vyskytujícím se v cereáliích, které jsou běžně zpracovávány v mlýnech ČR. Ke stanovení mykotoxinů byla využita metoda ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem typu iontová past (U-HPLC-MS/MS), která je považovaná za kontrolní, přesnou a citlivou metodu pro stanovení mykotoxinů v cereáliích.

STANDARDY A CHEMIKÁLIE

Standardy mykotoxinů byly zakoupeny u firmy Dynex s.r.o. (Buštěhrad, ČR) a Sigmy–Aldrich spol. s.r.o. (Praha, ČR). Organická rozpouštědla použitá při přípravě vzorků a separaci (acetonitril, methanol) byly dodány firmou Sigma–Aldrich spol. s.r.o. (Praha, ČR).

VZORKY

Firma Goodmills Česko a. s. (do konce roku 2012 Unimills a. s.) nám v rámci spolupráce poskytla v průběhu let 2011–2014 vzorky pšenice a žita. Celkem se jednalo o 665 vzorků cereálií (507 vzorků pšenice a 158 vzorků žita).

PŘÍPRAVA VZORKU

Veškeré vzorky cereálií byly před samotnou extrakcí pečlivě homogenizovány na laboratorním mlýnku. Před odebráním extrahovaného podílu, byl celý namletý objem důkladně promíchán. 2g vzorku cereálie byly naváženy do centrifugační kyvety (50 ml), následoval přídatek 10 ml roztoku 0,2% kyseliny mravenčí ve vodě. Vzorek se protřepe, uzavře a nechá 30 min stát z důvodu nabobtnání matrice. Ke vzorku s vodou se poté přidalo 10 ml acetonitrilu a následovala extrakce na laboratorní třepačce po dobu 30 min. Do kyvety bylo přidáno MgSO_4 (4 g) a NaCl (1 g) a vzorek byl opět intenzivně třepán v ruce po dobu 3 min (díky exotermní reakci solí s vodou se vzorek samovolně zahříval). Takto připravený vzorek byl centrifugován po dobu 5 min při otáčkách 10.000 RPM. Po odstředění byl z horní acetonitrilové vrstvy odebrán vzorek (cca 1,5 ml) pro přečištění pomocí mikrofiltru (centrifugace 2 min, 5.000 RPM). Takto připravený vzorek byl převeden do vialky a připraven k analýze. Výsledný obsah matrice v extraktu byl 0,2 g/ml. Vzorky ve vialkách byly před analýzou skladovány při -18°C .

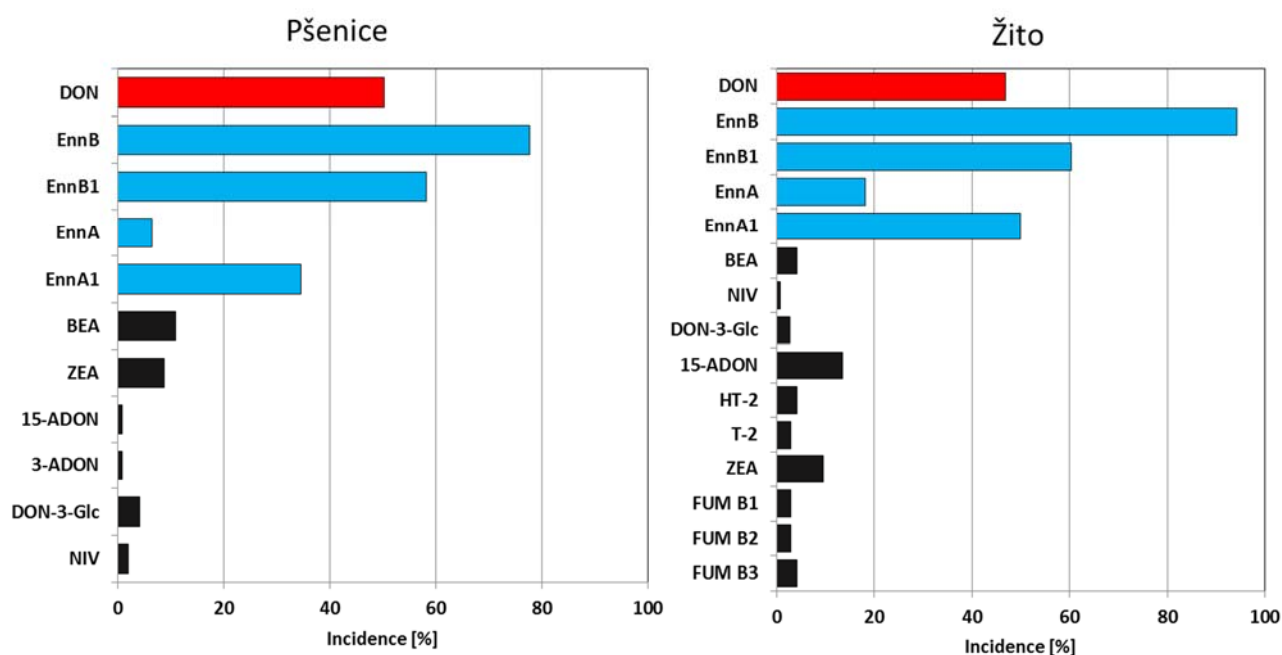
IDENTIFIKACE A KVANTIFIKACE

Identifikace a kvantifikace byla provedena pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s využitím kapalinového chromatografu Acquity U-HPLC (Waters), k detekci analytů byl použit

tandemový hmotnostní spektrometr QTRAP 5500 (Applied Biosystems). Díky širokému rozmezí fyzikálně-chemických vlastností mykotoxinů byly analyty rozděleny do dvou skupin (pozitivní a negativní ESI ionizace) na základě jejich optimálních parametrů pro MS/MS stanovení. Každý vzorek je tedy analyzován paralelně dvakrát, jednou v ESI+ a ESI- módu s využitím různých podmínek nastavení kapalinové chromatografie i hmotnostní detekce.¹

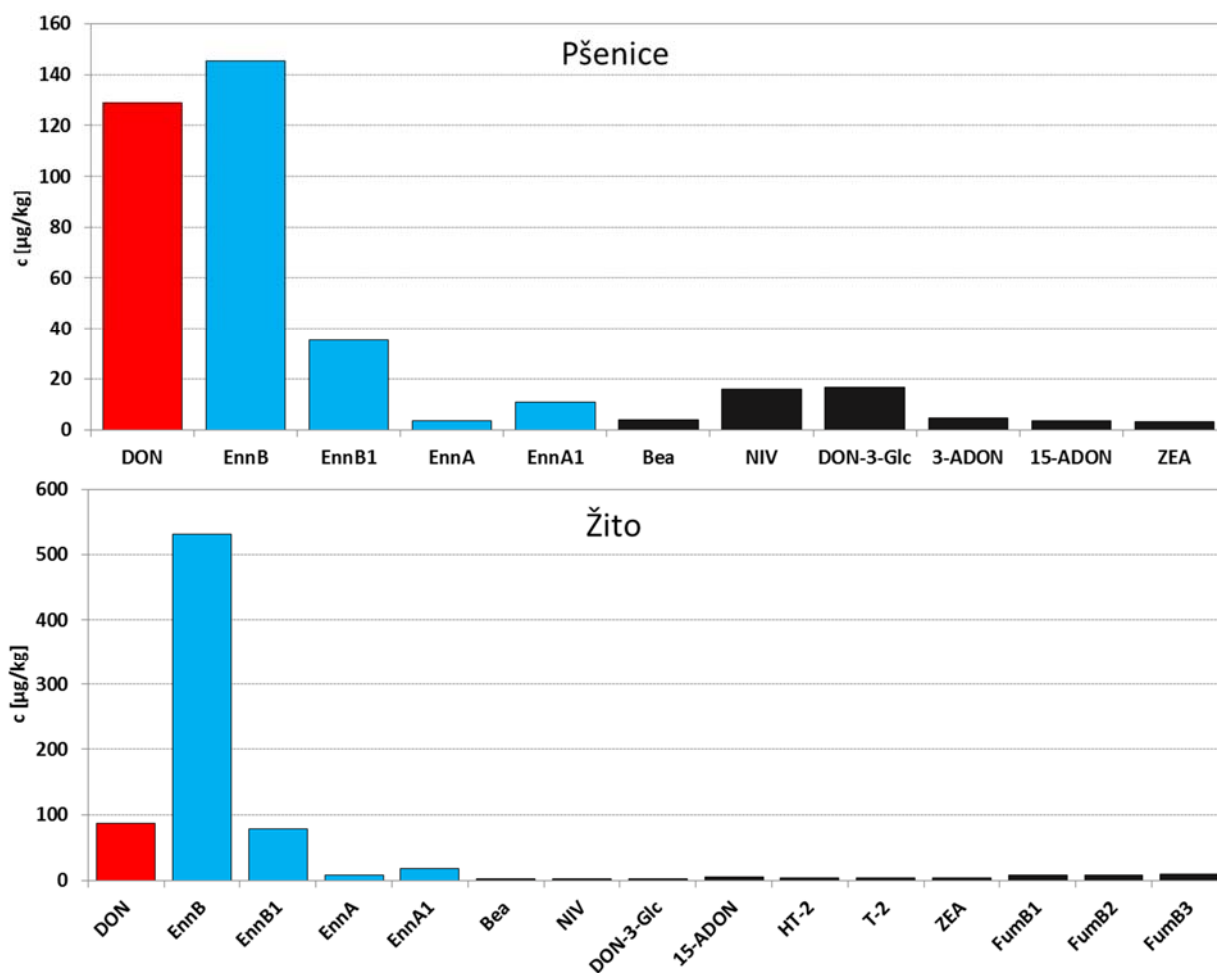
VÝSLEDKY A DISKUSE

Vzorky obilnin byly vyšetřeny na přítomnost 57 mykotoxinů/ergotových (námelových) alkaloidů. Průměrné hodnoty incidence mykotoxinů v pšenici a žitu za období 2011-2014 jsou graficky znázorněny na Obr. 1. Z grafů (Obr. 1) je zřejmé, že deoxynivalenol (DON), který je obecně považován za marker mykotoxinové kontaminace cereálií, byl detekován přibližně u 50% vzorků pšenice a u 47% vzorků žita. Ovšem někteří zástupci enniatinů se oproti DON vyskytovaly ve vyšší míře a to konkrétně enniatin B (EnnB) byl přítomen u 78% vzorků pšenice a u 94% vzorků žita. Dále enniatin B1 (EnnB1) byl přítomen přibližně u 60% vzorků pšenice i žita. Incidence dalších mykotoxinů nedosahovala ani 20% u vyšetřených vzorků.



Obr. 1 Incidence deoxynivalenolu (červeně), ergotových alkaloidů (modře) a dalších detekovaných mykotoxinů (černě) ve vzorcích pšenice (vlevo) a žita (vpravo)

U fusariových mykotoxinů enniatinů byly zaznamenány také vyšší průměrné hladiny (EnnB viz. Obr. 2). Zatímco průměrná hodnota koncentrace DON byla 129 $\mu\text{g/kg}$ a 87 $\mu\text{g/kg}$ u pšenice a žita, tak u EnnB byla zaznamenána u pšenice hodnota 145 $\mu\text{g/kg}$ a u žita dokonce hodnota přibližně 6x vyšší oproti DON a to 532 $\mu\text{g/kg}$. Průměrné hodnoty koncentrací dalších detekovaných toxinů nepřesáhly hladinu 20 $\mu\text{g/kg}$. Enniatiny nejsou zatím legislativně regulovány. Vzhledem ke své struktuře molekuly, společnému výskytu a popsáním toxickým účinkům, které enniatiny vykazují, by měli být v budoucnu posuzovány jako suma (enniatin A, A1, B, B1).² Maximální koncentrace sumy enniatinů dosahovala u některých vzorků až 10³ $\mu\text{g/kg}$. Z grafů (Obr. 1 a Obr.2) vyplývá, že u žita je incidence i průměrná suma enniatinů vyšší než u pšenice. Průměrná koncentrace EnnB byla u žita přibližně 3,5x vyšší než u pšenice. Z uvedených výsledků vyplývá, že enniatinům je potřeba věnovat v budoucnu větší pozornost.



Obr. 2 Průměrné obsahy deoxynivalenolu (červeně), ergotových alkaloidů (modře) a dalších detekovaných mykotoxinů (černě) ve vzorcích pšenice (nahore) a žita (dole)

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT (Rozhodnutí č. 20/2015) a z projektu QI111B154.

LITERATURA

1. Lacina, O.; et al. Critical assessment of extraction methods for the simultaneous determination of pesticide residues and mycotoxins in fruits, cereals, spices and oil seeds employing ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2012**, 1262 (2), 8–18.
2. EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2014. Scientific Opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. *EFSA Journal* **2014**;12(8):3802, 174 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3802.

R 18**VÝSKYT POLÁRNÍCH PESTICIDŮ V ROSTLINNÝCH KOMODITÁCH**

Hrbek V., Bícová M., Krmela A., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Úvod

Pesticidy jsou nedílnou součástí dnešního zemědělství. Jedná se o širokou škálu různorodých látek s odlišnými vlastnostmi a účinky. Jsou aplikovány především pro zlepšení kvality a výnosu zemědělské produkce. Jejich vlastnosti též umožňují použití pro usnadnění mechanizované sklizně plodin jako desikanty. Pro tento účel je v roli desikantu nejčastěji užíván totální herbicid glyphosate a to ve spojení například s luštěninami nebo mákem.

Glyphosate (N-(fosfonomethyl)glycin) je širokospektrální herbicid, který patří mezi nejčastější prostředky k hubení plevelů, jedná se o účinnou složku hojně používaného pesticidního přípravku Roundup a dalších herbicidních přípravků.

V posledních letech se, v souvislosti s plodinami využívanými zejména v potravinářském průmyslu, objevila řada pochybností o bezpečnosti této látky. V této souvislosti neustále narůstají požadavky na kontrolu reziduí v různých plodinách a z toho plyne i vývoj vhodných a dostatečně citlivých analytických metod pro sledování těchto reziduí.

Glyphosate - popis

Glyphosate je bezbarvá, krystalická látka bez zápachu. Funguje na principu inhibování určitého enzymu, jenž se zapojuje v rostlinném těle do syntézy aromatických aminokyselin – tyrozinu, tryptofanu a fenylalaninu. Glyphosate je velmi účinný proti hluboce zakořeněným a dřevitým trvalým, jednoletým a dvouletým travinám, ošticím a široce olistěným plevelům, užívá se v zemědělství i lesnictví. Glyphosate je obecně méně persistentní ve vodním než půdním prostředí, je silně na půdu vázán. Obvykle mají půdní rezidua této látky dobu rozkladu méně než 60 dní např. glyphosate v hlinitých půdách se za letních podmínek rozloží obvykle za 20 - 30 dní.

Glyphosate - legislativa

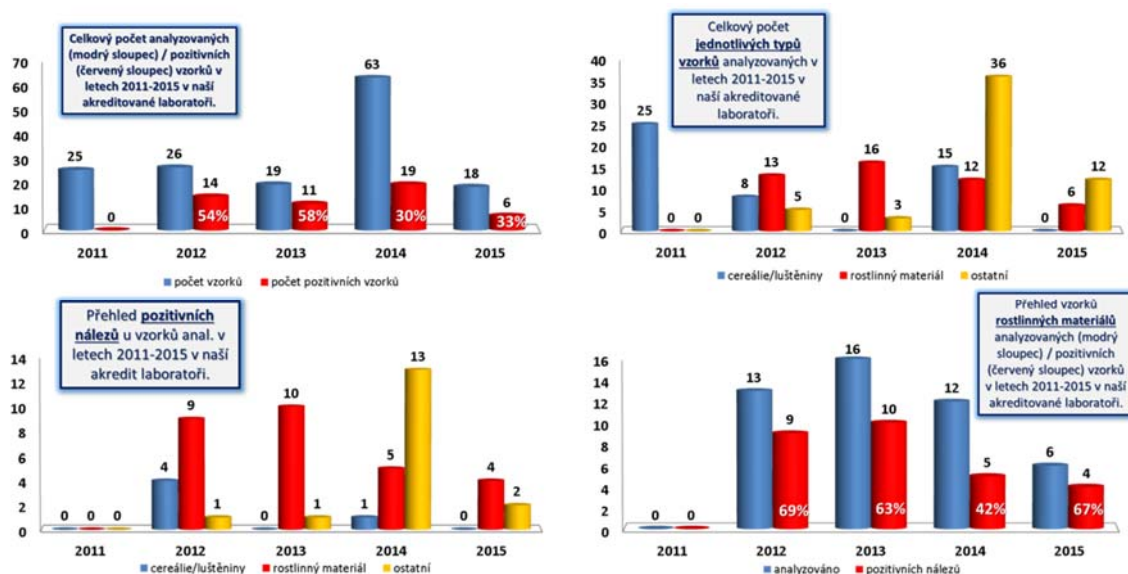
Evropská komise vytvořila databázi maximálních povolených limitů reziduí jednotlivých pesticidů (MLR) v různých potravinových komoditách. Legislativní limity jsou v různém časovém horizontu kontrolovány, ověřovány a přehodnocovány, dle dostupných informací a zkušeností. Současně platný legislativní limit pro glyphosate je z roku 2013 a je řízen dokumentem: Nařízení komise (EU) č. 293/2013. Na webových stránkách referenční laboratoře Evropské unie je možno nalézt databázi všech MLR včetně těch pro glyphosate. Zde jsou uvedeny pouze příklady: 0,05 mg/kg – svalovina, játra, ledviny, tuková tkáň, mléko, vejce, med, 0,1 mg/kg – většina ovoce (jablka, citrusy, ...), zelenina, 10 mg/kg – čočka, hrách, pšenice, žito, 20 mg/kg – sója, slunečnicové semínko, ječmen, oves.

Glyphosate - toxicita

Dříve byl glyphosate považován za netoxický pro živočichy, tedy i pro člověka. Toto vyplývalo z mechanismu jeho účinku. Nicméně stále se objevovaly studie naznačující, že glyphosate není zcela bez zdraví škodlivého vlivu na živočichy, ať již v menší či větší míře. Tato neustále se opakující domněnka podnítila znovu přezkoumání zdraví škodlivého efektu glyphosatu. V březnu roku 2015 Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny zveřejnila informaci o přehodnocení toxicity glyphosatu a zařadila ho nově do skupiny 2A, na stupnici hodnocení karcinogenity, tedy jako pravděpodobný lidský karcinogen. Tato skutečnost by měla mít za následek zvýšení pozornosti a zpřísnění kontroly reziduí glyphosatu, nicméně k přehodnocení legislativních limitů zatím nedošlo.

Glyphosate - vzorky

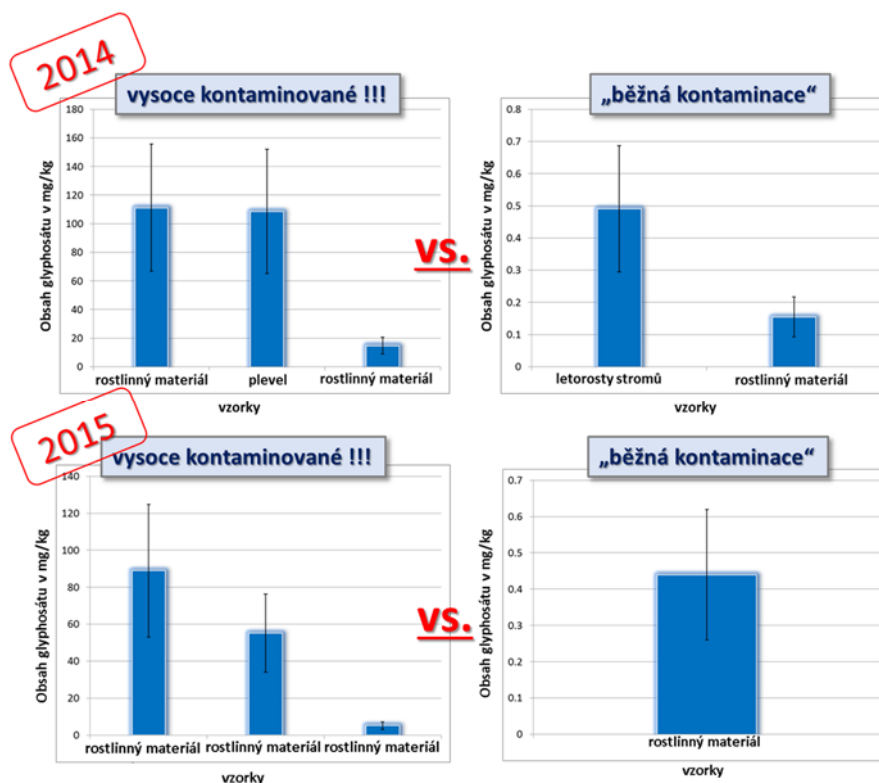
Glyphosate je v akreditované laboratoři Ústavu analýzy potravin a výživy Vysoké školy chemicko-technologické v Praze stanovován od roku 2011, kdy byla metoda vyvinuta původně pro sledování obsahu reziduí glyphosatu v luštěninách a cereáliích. Postupem času, rok co rok, analyzovaných vzorků přibývalo a i druhy analyzovaných matric přibývaly. Zejména přibýly tzv. forenzní vzorky, kdy vyšetření přítomnosti či nepřítomnosti a obsahu reziduí glyphosatu mělo napomoci při soudních sporech. Jedná se především o poškozené rostlinné materiály různého druhu (plevel, listy, letorosty stromů aj.). V roce 2014, zřejmě se změnou legislativy, přibyla nová matrice tj. mák setý. Česká republika zaujímá první místo v pěstění máku na světě, je tedy i velmi významným vývozcem máku setého. Odběratelé máku požadují doložit záznam o analýze reziduí glyphosatu v kupovaném máku.



Obrázek 1: počty analyzovaných vzorků a množství pozitivních nálezů reziduí glyphosatu v letech 2011-2015. Sloupeček ostatní zahrnuje hlavně vzorky máku setého.

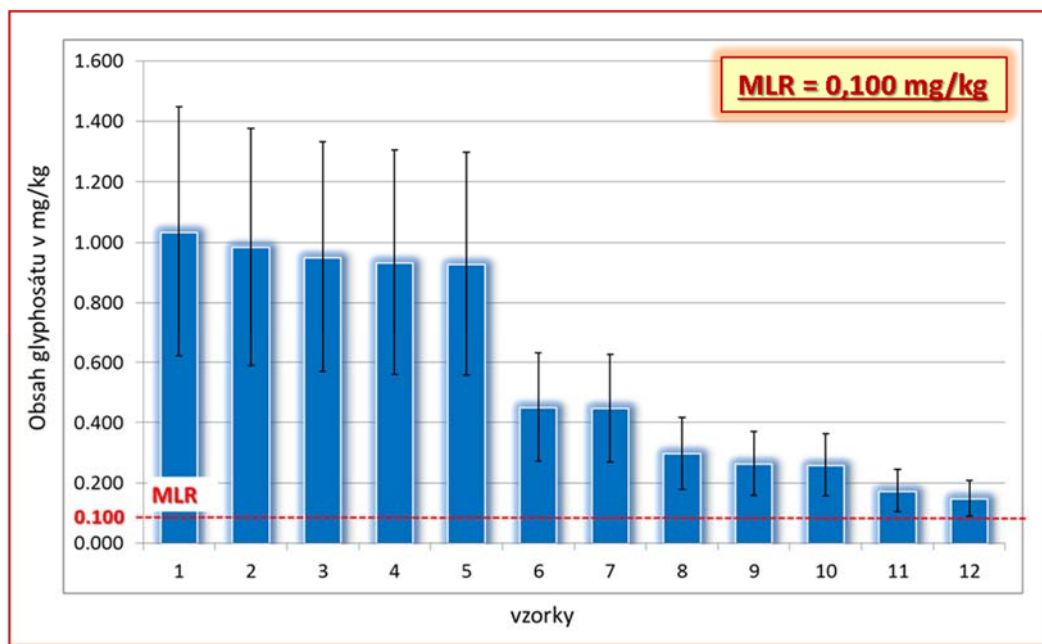
Glyphosate - výsledky

V rámci téměř pětiletého monitoringu reziduí glyphosatu v různých typech matric byly v letech 2011-2015 nalezeny větší či menší počty kontaminovaných vzorků a i koncentrační hladiny nalezených reziduí glyphosatu byly velmi rozmanité. Výrazně odlišné výsledky byly zaznamenány v případě forenzních analýz vzorků rostlinných materiálů, kde byly nalezeny poměrně vysoké koncentrace reziduí glyphosatu.



Obrázek 2: příklady nálezů reziduí glyphosatu v rostlinných materiálech v letech 2014 a 2015.

Tato skutečnost může být způsobena faktem, že vzorky byly analyzovány v krátké době od aplikace, ať již úmyslné či neúmyslné (úlet použitého přípravku na necílené místo). Případně nesprávným použitím přípravku obsahujícího glyphosate jako účinnou látku, nedodržení předepsaného aplikačního postupu dle návodu, zejména špatné ředění. Vzhledem k tomu, že pro rostlinné materiály nejsou žádné legislativní limity, nejsou brány jakožto potraviny, není možno hovořit o překročení legislativního limitu i při tak vysokých koncentracích reziduí, které byly přítomny v analyzovaných vzorcích rostlinných materiálů. Přesto by tomuto faktu měla být věnována pozornost vzhledem k tomu, že glyphosate může způsobit zdravotní potíže i při doteku či vdechování, ne pouze po orálním požití. V případě analýz vzorků máku setého byla nalezena více jak 1/3 (35%) pozitivních vzorků na obsah reziduí glyphosatu. Díky velmi přísnému legislativnímu limitu MLR pro obsah reziduí glyphosatu v máku setém 0,1 mg/kg byly všechny pozitivní nálezy nadlimitní, některé i několikanásobně. Proto je nutno i nadále monitorovat obsah reziduí glyphosatu v máku setém.



Obrázek 3: nálezy reziduí glyphosatu v máku setém v analyzovaných vzorcích v roce 2014.

Kromě glyphosatu se naše pracoviště zaměřuje i na řadu dalších polárních pesticidů, jako je například chlormequat, kontrolován zejména v dětské výživě obsahující hruškové pyré. Dětská výživa je v tomto ohledu zcela bez problému. Neustále se objevují i nové a nově sledované látky jako jsou například chlořečnany zejména v kořenové zelenině. I zde není situace nikterak kritická. A v neposlední řadě analyzujeme velké množství vzorků ovoce, zeleniny, cereálií a dalších komodit na přítomnost reziduí i ostatních cca 450 pesticidů.

Závěr

V této studii byla implementována metoda, pro kontrolu obsahu glyphosatu a jiných silně polárních pesticidů, která spočívá v extrakci analytů směsí polárních rozpouštědel a využití techniky kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní detekcí (LC-MS/MS).

Výsledky ukázaly častou incidenci glyphosatu, při dosavadním vyšetření 41 vzorků máku bylo nalezeno 12 (35%) pozitivních nálezů (ke dni 30.3.2015). Vzhledem k přísnému maximálnímu limitu reziduí (MLR) glyphosatu v máku, který je 0,1 mg/kg, bylo ve všech 12 případech zjištěno překročení tohoto limitu, v některých případech až o 1000%.

Tento postup byl využit i při různých typech sporů kdy bylo řešeno poškození porostu zahrad (i zemědělských ploch) „neznámou“ látkou. V laboratoři bylo prokázáno (analýzou rostlinného materiálu), že se jedná o poškození glyphosatem.

Tato studie vznikla za podpory projektů (i) MŠMT MSM 6046137305 a (ii) účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015).

R 19**TROPANOVÉ ALKALOIDY: NOVĚ SLEDOVANÉ PŘÍRODNÍ TOXINY V POTRAVINÁCH A DOPLŇCÍCH STRAVY**

Zachariášová A., Zachariášová M., Krtková V., Forejtová E., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Tropanové alkaloidy jsou toxické sekundární metabolity přirozeně se vyskytující v celkem sedmi čeledích kvetoucích rostlin. Nejčastěji studovanými reprezentanty jsou čeledi rostlin *Brassicaceae*, *Solanaceae* nebo *Erythroxylaceae*, z nichž nejznámějším zástupcem je *Datura stramonium*, čili durman obecný. Jedná se o rostlinu široce rozšířenou v mírném klimatickém pásu, jejíž semena byla nalezena jako nežádoucí příměs zemědělských plodin, jako je pohanka, sója, lněné semeno, slunečnice či proso. Běžnou příčinou jejich výskytu v potravinách, krmivech či doplňcích stravy, je kontaminace plodin při sklizni ze zaplevelených polí. V současné době zatím systematická kontrola výskytu tropanových alkaloidů v EU neprobíhá. Pro zhodnocení zdravotních rizik spojených s dietárním příjmem těchto toxických sloučenin, je ale nutné mít k dispozici údaje o jejich výskytu a typických hladinách v různých typech potravin, pozornost je třeba věnovat i doplňkům stravy. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) v roce 2014 rovněž deklaroval nutnost potřebné informace pro tropanové alkaloidy doplnit. Jedním z nejmodernějších směrů analýzy tropanových alkaloidů je využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií. Pomocí této metody je možno stanovit a kvantifikovat 6 různých nejběžněji se vyskytujících tropanových alkaloidů (atropin, skopolamin, anisodamin, homatropin, aposkopolamin, atropin). Díky výše zmíněné instrumentaci je možno provést i necílový screening přítomnosti řady dalších reprezentantů ze skupiny tropanových alkaloidů, které se mohou v analyzovaném materiálu teoreticky vyskytovat.

V rámci této studie je poprvé v České republice provedeno rozsáhlejší zhodnocení výskytu tropanových alkaloidů v potravinách a doplňcích stravy, což má významný přínos pro zhodnocení expozice a rizika plynoucího z přítomnosti těchto přírodních toxinů v potravinách.

R 20**BEZLEPKOVÉ SMĚSI CULINAR**

Hůrková K., Adamcová V.

LYCKEBY CULINAR a.s.

FIREMNÍ PREZENTACE

V úvodu prezentace krátce seznámíme účastníky symposia se společností LYCKEBY CULINAR a.s. a s jejím výrobním programem. Podrobněji budeme informovat o směsích určených pro přípravu bezlepkových výrobků – chlebů, pečiva, knedlíků, cukroví apod., které nejsou určeny pouze pacientům s celiakií, ale i širší skupině lidí vyznávající nové trendy zdravého životního stylu.

R 21**ALPHATEC - MODERNÍ ZPŮSOB STANOVENÍ PÁDOVÉHO ČÍSLA V OBILÍ A MOUCE**

Fleglová I.

MILCOM servis, a.s., Hostivařská 56/538, 102 00 Praha 10

FIREMNÍ PREZENTACE**R 22****LABORATORNÍ PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ BÜCHI PRO STANOVENÍ DUSÍKU A TUKU**

Kaplan R.

DONAU LAB, s.r.o

FIREMNÍ PREZENTACE

Prezentace firmy DONAU LAB, s.r.o. je zaměřena na seznámení se s aktuální produktovou řadou laboratorního přístrojového vybavení od švýcarské společnosti BÜCHI pro oblast potravin a krmiv. Podrobněji se bude věnovat modelovým řadám pro stanovení dusíku a tuku.

R 23**NOVÉ POTRAVINÁŘSKÉ SUROVINY OD FIRMY AZELIS**

Soukeník P.

AZELIS Czech Republic s.r.o.

FIREMNÍ PREZENTACE

PALATINOSA – cukr s nízkým glykemickým indexem, ENGEVITA D – kvasnice s vysokým obsahem vitamínu D, QUILLAIA – přírodní emulgátor, BACTOCEASE – konzervační látka na bázi octa, CITRI-FI – citrusová vláknina, REMYPRO – rýžový protein, REMYLIVE – stabilizované rýžové otruby.

R 24**VÝHODY ALTERNATÍVNYCH TESTOV AKTIVITY ENDOKRINNÝCH
DISRUPTOROV A GENOTOXICITY**

Boroň J., Novotný P.
ESSENCE LINE, s.r.o.

FIREMNÍ PREZENTACE

Endokrinné disruptory je možné nájsť v predmetoch každodennej potreby ako sú plastové fľaše, plechové konzervy, detergenty, jedlo, hračky, kozmetika a pesticídy. Cez pôsobenie na endokrinný systém môžu spôsobovať vývojové, reprodukčné, neurologické a imunitné defekty v exponovanej populácii. Práve preto v poslednom čase rastie potreba testovania ich aktivity. Pre genotoxicitu v súčasnej dobe existuje niekoľko spôsobov testovania. Jeden z najbežnejších - Amesov test je v dnešnej dobe po väčšine vykonávaný viac menej v rovnakej forme ako v čase svojho vzniku pred vyše 40 rokmi. Pritom existuje jednoduchšia a rýchlejšia alternatíva.

R 25**ZLEPŠENÍ KVALITY POMERANČOVÝCH ŠŤÁV S DUŽINOU APLIKACÍ INERTNÍ ATMOSFÉRY**

Tobolková B. (1), Belajová E. (1), Polovka M. (1), Durec J. (2)

¹⁾ Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, VÚP Výskumný ústav potravinársky – Oddelenie chémie a analýzy potravín, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava, Slovenská republika

²⁾ McCarter, a.s., Bajkalská 25, 821 01 Bratislava, výrobní závod: Budovatelská 1247/7, 929 01 Dunajská Streda, Slovenská republika

Abstrakt

Antioxidační a radikál-zhášející aktivita, koncentrace kyseliny askorbové a celkových polyfenolů, stejně jako celková barevná změna pomerančových šťáv s dužinou vyrobených konvenční technologií („kyslíková atmosféra“) a pod atmosférou dusíku byly monitorovány s cílem posoudit vliv doby skladování a aplikace inertní atmosféry na uvedené charakteristiky šťáv.

Klíčová slova: pomerančová šťáva, inertní atmosféra, EPR, UV-VIS, HPLC

Úvod

Pomerančové šťávy řadu biologicky aktivních látek. Kromě vitamínů (především vitamín C, B6 a niacin) a minerálních látek (draslík a hořčík), jsou bohatým zdrojem fenolických látek, které jsou charakteristické výraznými antioxidačními vlastnostmi. Fenolické látky také ovlivňují chuť a barvu ovoce a mohou tak pozitivně ovlivňovat senzoryckou kvalitu ovocných šťáv. Koncentrace těchto látek, stejně jako organoleptické vlastnosti šťáv, mohou být ovlivněny odrůdovými rozdíly a kvalitou ovoce, ale i podmínkami jeho zpracování, technologií výroby šťáv, typem balicího materiálu a skladovacími podmínkami [1-3].

Nové trendy ve výrobě ovocných šťáv jsou založeny na přidavku ovocné dužiny nebo ovocných kousků, ale také na zavedení nových technologických postupů zpracování ovoce, které mají za cíl zlepšit nutriční hodnotu šťáv a prodloužit jejich trvanlivost (např. aplikace inertních plynů, ultrazvukové zpracování, nebo zpracování za vysokého) [4, 5].

Cílem práce bylo pomocí metod EPR, UV-VIS a HPLC monitorovat změny antioxidační a radikál-zhášející aktivity, koncentrace kyseliny askorbové, hesperidinu a celkových polyfenolů, stejně jako celkové barevné změny dlouhodobě skladovaných 100% šťáv z čerstvě lisovaných pomerančů s dužinou (22 týdnů, 7 ± 1 °C) v závislosti na odlišných výrobních postupech a době skladování.

Materiál a metody

Vzorky pomerančových šťáv s dužinou, původ ovoce Kostarika, byly vyrobeny firmou McCarter a.s. (Dunajská Streda, Slovenská republika). Šťávy byly vyrobeny konvenční technologií („kyslíková“ atmosféra - reference) a po lehké pasterizaci byly asepticky naplněny do PET lahví; a technologií, při níž byl aplikován dusík jako inertní atmosféra v celém procesu výroby šťávy. Oba typy šťáv byly skladovány při standardních podmínkách (tma, 7 ± 1 °C) po dobu 22 týdnů, tj. 4 týdny po skončení deklarované doby trvanlivosti.

Pro účely porovnání vlivu odlišných výrobních postupů na kvalitu šťáv, bylo stanoveno několik parametrů ovlivňujících jejich antioxidační status. Antioxidační a radikál-zhášející aktivita byla monitorována pomocí EPR spektroskopie, s využitím ABTS^{•+} a TEMPOL radikálů [6, 7]. Celkový obsah polyfenolů (TPC), stejně jako barevné změny byly stanoveny pomocí UV-VIS spektroskopie [7, 8]. Změny koncentrace kyseliny askorbové a flavonoidu hesperidinu byly stanoveny HPLC-DAD [8]. Všechny data byla statisticky zpracována metodou ANOVA - testem shody regresních přímek s cílem posoudit rozdíly mezi pomerančovými šťávami vyrobenými konvenčně a pod dusíkovou atmosférou.

Výsledky a diskuze

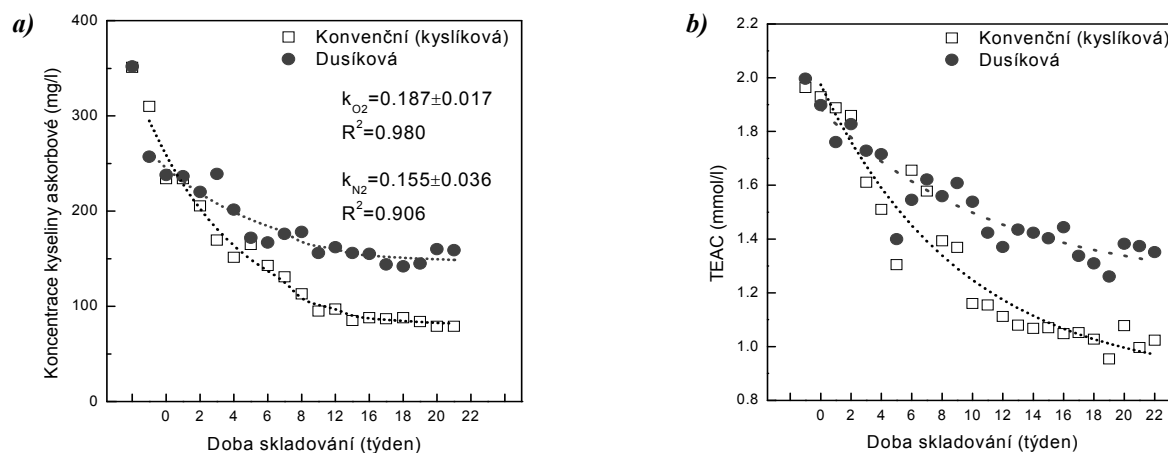
Získané výsledky jasně prokázaly, že aplikace dusíku jako inertní atmosféry, ale i podmínky skladování významně ovlivňují trvanlivost šťávy a její kvality. Ve většině případů bylo pozorováno postupné zhoršování sledovaných parametrů, a to bez ohledu na výrobní technologii. Celkové změny jednotlivých parametrů pomerančové džusy s dužinou na konci expirační doby (18. týden) a monitorovaného období (22. týden) jsou uvedeny v *Tabulce 1*.

Kyselina askorbová je přírodní antioxidant jehož obsah je důležitým kvalitativním parametrem v ovocných šťávách. Degradace kyseliny askorbové v balených ovocných šťávách závisí především na podmínkách skladování (teplota, světelné podmínky), obsahu rozpuštěného kyslíku nebo typu obalového materiálu. Změny koncentrace kyseliny askorbové v obou typech analyzovaných šťáv jsou znázorněny na *Obr. 1a*. K největším ztrátám kyseliny askorbové došlo v průběhu prvních 9 týdnů skladování, zatímco během následujících 13 týdnů došlo pouze k nepatrným změnám, přičemž během prvních 6 týdnů je postup degradace kyseliny askorbové podobný u obou typů analyzovaných šťáv, ale v následujícím období se projevuje výrazný rozdíl mezi šťávami vyrobenými konvenční technologií a pod atmosférou dusíku. Na konci expirační doby, tj po 18 týdnech skladování, klesla koncentrace kyseliny askorbové o 72% (konvenční atm.), resp. 47% (dusík atm.).

Tab. 1: Celková změna (%) jednotlivých parametrů pomerančových šťáv s dužinou na konci expirační doby a monitorovacího období (18./ 22. týden)

	TPC	TEAC	AAE	Koncentrace kyseliny askorbové	Koncentrace hesperidinu
Konvenční (kyslíková) atm.	14 / 18	48 / 51	50 / 59	72 / 72	42/42
Dusíková atm.	10 / 13	28 / 30	23 / 26	47 / 47	18/18

Na *Obr. 1b* jsou znázorněny změny ABTS⁺ radikál-zhášející aktivity; výsledky byly vyjádřeny jako hodnoty TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) [6]. Podobně jako v případě stanovení kyseliny askorbové, z výsledků je zřejmý jednoznačný rozdíl mezi oběma typy analyzovaných šťáv. Na konci expirační doby klesla antioxidační aktivita u šťáv vyrobených konvenční technologií o 48%, zatímco v případě dusíkové atmosféry o 28%. Stejně jako v případě kyseliny askorbové, následující skladování vedlo pouze k minimálním změnám hodnot TEAC. I v tomto případě se tedy potvrdil pozitivní vliv inertní atmosféry na kvalitu pomerančových šťáv.

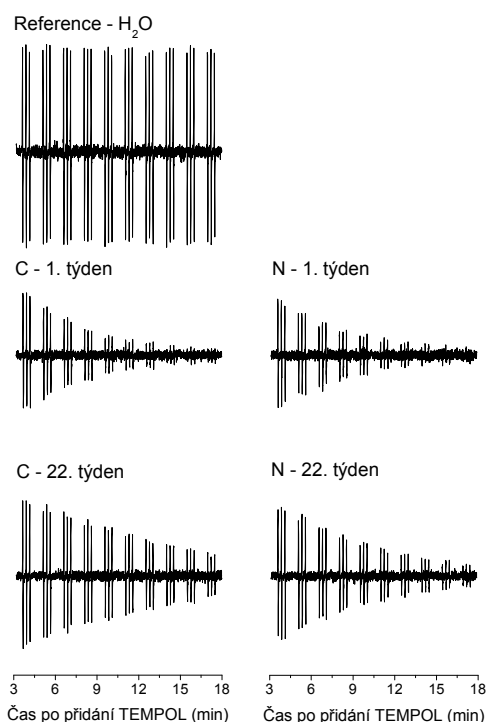


Obr. 1: Vliv skladování na **a)** koncentraci kyseliny askorbové a **b)** ABTS⁺ radikál-zhášející aktivitu (TEAC) pomerančových šťáv s dužinou vyrobených konvenční technologií (□) a pod dusíkovou atmosférou (●), které byly skladovány 22 týdnů v temnu při 7±1 °C

V případě TEMPOL testu odrážejícího přítomnost nízkomolekulárních organických kyselin, zejména kyseliny askorbové, byly výsledky vyjádřeny jako hodnoty AAE (*Ascorbic acid equivalent*) [7]. Na *Obr. 2* je znázorněn typický průběh EPR spekter TEMPOL radikálu v přítomnosti obou typů pomerančových šťáv. Zatímco u reference (dest. voda) je intenzita EPR

spektra konstantní, v přítomnosti šťáv dochází k postupnému poklesu intenzity spektra. Na začátku experimentu je patrný výraznější pokles intenzity EPR spektra, bez ohledu na produkční technologii, zatímco na konci experimentu je v důsledku nižších koncentrací látek antioxidační povahy patrný nižší pokles intenzity. Co se týče porovnání obou produkčních technologií, výraznější rozdíl mezi intenzitami EPR spekter na začátku a na konci experimentu je u šťáv vyrobených konvenční technologií, kdy hodnoty AAE na konci expirační doby klesly o cca 50%, zatímco u dusíkové atmosféry o 23%.

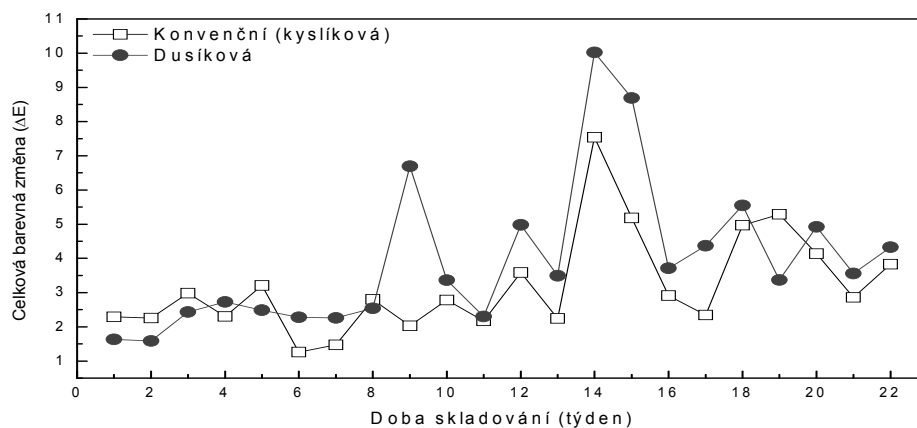
Podle očekávání došlo v průběhu skladování i k poklesu celkového obsahu polyfenolů, výraznějšímu u šťáv vyrobených konvenční technologií. Avšak, z výsledků je zřejmá také relativně vysoká variabilita hodnot TPC, bez ohledu na typ produkční technologie. To je pravděpodobně způsobeno tvorbou nízkomolekulárních fenolických látek vznikajících v průběhu dlouhodobého skladování. Tyto sloučeniny mohou reagovat s Folin-Ciocalteuovým činidlem, a tím ovlivňovat výsledky tohoto testu. Kromě toho, tato variabilita hodnot TPC může být také způsobena nehomogenitou vzorků.



Obr. 2: Časový vývoj EPR spektra v systému obsahujícím volný radikál TEMPOL a referenci (dest. vodu), resp. vzorek pomerančové šťávy s dužinou vyrobené konvenční technologií (C) a pod dusíkovou atmosférou (N) na začátku (1. týden) a na konci (22. týden) experimentu.

Hesperidin je nejčastěji se vyskytujícím flavonoidem v pomerančových šťávách a změny jeho koncentrace relativně dobře korelují se změnami v celkových polyfenolů, a to zejména v případě šťáv vyrobených pod atmosférou dusíku. Koncentrace hesperidinu po 18 týdnech skladování klesla na 58% (konvenční atm.), resp. 82% (dusík atm.) počáteční koncentrace.

Všechny změny popsané výše, zejména změny celkového obsahu polyfenolů, mohou přímo ovlivňovat barvu ovocných šťáv, která je vedle koncentrace kyseliny askorbové, dalším kvalitativním parametrem šťáv. Celková barevná změna (ΔE , Obr. 3) byla vypočítána z trichromatických souřadnic systému CIE $L^*a^*b^*$ [7]. Podle stupnice navržené Cserhalmim et al. [9], lze celkové barevné změny obou typů pomerančových šťáv klasifikovat jako slabě postřehnutelné (0.5 – 1.5) až viditelné (3.0 – 6.0).



Obr. 3: Vliv skladování na celkovou barevnou změnu (ΔE) pomerančových šťáv s dužinou vyrobených konvenční technologií a pod atmosférou dusíku, které byly skladovány 22 týdnů při 7 ± 1 °C.

Tab. 2: Statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými parametry pomerančových šťáv s dužinou vyrobených konvenční technologií (C) a pod atmosférou dusíku (N) (statisticky významný rozdíl $P < 0.05$).

Parametr	Porovnání	Rozdíl	Směr. odchylka	P
TEAC	N – C	0.1923	0.0236	0.0000
AAE	N – C	0.0402	0.0046	0.0000
TPC	N – C	23.9641	4.6104	0.0006
Ascorbic acid	N – C	41.4349	5.0886	0.0000

S cílem statisticky potvrdit pozorované rozdíly mezi šťávami vyrobenými konvenčně a pod atmosférou dusíku, byla všechna experimentální data zpracována pomocí ANOVA – testem shody regresních přímek. Statisticky významný rozdíl byl pozorován u hodnot TEAC, AAE, TPC a u koncentrace kyseliny askorbové, u zbývajících parametrů lze změny označit za statisticky nevýznamné.

Závěr

Získané výsledky jasně potvrdily, že výrobní podmínky a jejich modifikace mají značný vliv na kvalitu, a tedy i trvanlivost šťáv. Jednoznačně bylo prokázáno, že použití inertního plynu při výrobě ovocných šťáv má za následek eliminaci oxidačních procesů, a vede také k zpomalení degradace vitamínů, polyfenolů a dalších složek odpovědných za antioxidační vlastnosti šťáv.

Poděkování: Tento příspěvek byl vytvořen realizací projektu: „Zlepšenie výživových a senzorických parametrov ovocných a zeleninových nápojov aplikáciou inertných plynov“ (ITMS projektu 26220220175), na základě podpory operačního programu Výzkum a vývoj financovaného z Evropského fondu regionálního rozvoje.

Literatura

- [1] Deng, G.-F.; Lin, X.; Xu, X.-R.; Gao, L.-L.; Xie, J.-F.; Li, H.-B.: Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of Functional Foods*, 2013, vol. 5, no. 1, pp. 260-266.
- [2] Escobedo-Avellaneda, Z.; Gutiérrez-Urbe, J.; Valdez-Fragoso, A.; Torres, J. A.; Welti-Chanes, J.: Phytochemicals and antioxidant activity of juices, flavedo, albedo and comminuted orange. *Journal of Functional Foods*, 2014, vol. 6, pp. 470-481.
- [3] Kelebek, H.; Selli, S.; Canbas, A.; Cabaroğlu, T.: HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compounds and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 2009, vol. 97, no. 2, pp. 187-192.
- [4] Velázquez-Estrada, R. M.; Hernández-Herrero, M. M.; Rüfer, C. E.; Guamis-López, B.; Roig-Sagués, A. X.: Influence of ultra high pressure homogenization processing on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2013, vol. 18, pp. 89-94.
- [5] Valero, M.; Recrosio, N.; Saura, D.; Muñoz, N.; Martí, N.; Lizama, V.: Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 2007, vol. 80, no. 2, pp. 509-516.

- [6] Polovka, M.;Šťavíková, L.;Hohnová, B.;Karásek, P.;Roth, M.: Offline combination of pressurized fluid extraction and electron paramagnetic resonance spectroscopy for antioxidant activity of grape skin extracts assessment. *Journal of Chromatography A*, 2010, vol. 1217, no. 51, pp. 7990-8000.
- [7] Tobolková, B.;Durec, J.;Belajová, E.;Mihalíková, M.;Polovka, M.;Suhaj, M.;Daško, Ľ.;Šimko, P.: Effect of storage on physico-chemical properties of pineapple juice with addition of small pineapple pieces. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2013, vol. 52, no. 3, pp. 181-190.
- [8] Sádecká, J.;Polovka, M.;Kolek, M.;Belajová, E.;Tobolková, B.;Daško, Ľ.;Durec, J.: Orange juice with pulp: Impact of pasteurization and storage on flavour, polyphenols, ascorbic acid and antioxidant activity. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2014, vol. 53, no. 4, pp. 371-388.
- [9] Cserhalmi, Z.;Sass-Kiss, Á.;Tóth-Markus, M.;Lechner, N.: Study of pulsed electric field-treated citrus juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2006, vol. 7, no. 1-2, pp. 49-54..

R 26**VPLYV OCHRANNEJ ATMOSFÉRY NA STABILITU ARÓMY POMARANČOVEJ ŠŤAVY S DUŽINOU**

Kopuncová M. (1), Sádecká J. (1), Kolek E. (1), Durec J. (2)

(1) Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, VÚP Výskumný ústav potravinársky – Oddelenie chémie a analýzy potravín, Bratislava;

(2) McCarter, a.s., Bratislava (výrobný závod Dunajská Streda)

Abstrakt

Príspevok prezentuje výsledky skladovacieho experimentu, ktorého cieľom bolo zhodnotiť vplyv dvoch rôznych produkčných atmosfér, konkrétne dusíkovej a konvenčnej („kyslíkovej“) atmosféry, na stabilitu arómy pomarančovej šťavy s dužinou počas štyroch mesiacov doby trvanlivosti. Komplexná zmes prchavých látok šťavy bola extrahovaná prostredníctvom mikroextrakcie na tuhú fázu z „head-space“ vzorky (HS-SPME) a následne analyzovaná metódami plynovej chromatografie (GC-MS, GC-FID/O). Výsledky analýz preukázali, že produkcia takéhoto typu štiav v ochrannej atmosfére dusíka umožňuje zabrániť niektorým nežiaducim zmenám v zložení prchavých aróma-aktívnych látok a zachovať štandardné organoleptické vlastnosti produktu počas štvormesačného skladovania.

Kľúčové slová: pomarančová šťava, skladovanie, ochranná atmosféra, plynová chromatografia, olfaktometria

Úvod

Senzorický dojem z konzumácie čerstvo pripravenej, ručne vylisovanej pomarančovej šťavy sa väčšinou značne odlišuje od celkového pocitu získaného po ochutnaní nápoja z komerčnej produkcie [1, 2, 3, 4]. Na jednej strane, počas priemyselného lisovania pomarančov prechádza do šťavy väčší podiel oleja z kôry plodov, ktorý prispieva k terpenickej a horkastej aróme výsledného nápoja [1]. Na strane druhej, nastáva spravidla rozsiahly úbytok najmä najprchavejších aróma-aktívnych látok pri následnom spracovaní surovej šťavy, kedy sa z nej odseparuje dužina a šťava sa zahusť s cieľom zníženia nákladov na transport a skladovanie [2, 3]. A nakoniec, pred uvedením do predaja, je šťava rekonštruovaná rozpustením koncentráту vo vode a prípadne i obohatená prírodnými alebo syntetickými arómami na báze oleja či vody, čím nutne dochádza k ďalším zmenám v profile senzoricky významných látok [2, 3, 4, 5].

V poslednom čase významne stúpa záujem spotrebiteľov o ovocné nápoje približujúce sa svojimi nutričnými i organoleptickými vlastnosťami čerstvo vylisovaným šťavám. Táto požiadavka vyvoláva aktívny rozvoj potravinárskych technológií, ktoré by umožnili len minimálne úpravy surovej šťavy. Snaha o zachovanie prirodzeného charakteru čerstvej šťavy však so sebou prináša riziko zvýšenej miery oxidácie jej zložiek. Následkom môže byť rýchlejší nástup zmien organoleptických vlastností spojený s vývojom nežiaducich „off-flavour“ efektov. Jedným z potenciálnych riešení tohto problému je produkcia štiav v ochrannej atmosfére inertného plynu.

Cieľom príspevku je zhodnotiť účinnosť aplikácie dusíkovej atmosféry v technológii výroby pomarančových štiav s dužinou v porovnaní so spracovaním rovnakých štiav v prostredí konvenčnej („kyslíkovej“) atmosféry z hľadiska udržania stability arómy finálneho produktu počas štvormesačnej doby trvanlivosti.

Materiál a metódy

Vzorky pomarančovej šťavy obohatenej dužinou poskytla spoločnosť McCarter a.s., Bratislava (výrobný závod Dunajská Streda). Krajinou pôvodu šťavy je Kostarika, odkiaľ bola dodaná surová nekoncentrovaná šťava v zmrazenom stave. Po rozmrazení a pridaní dužiny bola šťava pasterizovaná (20 s pri 95 °C) a asepticky plnená do PET fliaš. Pre experimentálne účely bola jedna séria vzoriek vyrobená v ochrannej dusíkovej atmosfére a druhá, kontrolná séria, v prostredí konvenčnej („kyslíkovej“) atmosféry. Finálne produkty boli skladované pri 7 ± 1 °C počas

4 mesiacov, čo je doba trvanlivosti produktu deklarovaná výrobcom. Analýzy boli uskutočnené ihneď po zabalení šťavy a potom v mesačných intervaloch.

Prchavá frakcia šťavy bola získaná mikroextrakciou na tuhú fázu z „head-space“ vzorky (HS-SPME). Extrahovaná zmes látok bola následne analyzovaná plynovou chromatografiou s hmotnostne-spektrometrickým detektorom (GC-MS) a paralelne aj kombinovanou metódou plynovej chromatografie v spojení s plameňovo ionizačnou a olfaktometrickou detekciou (GC-FID/O), s cieľom odhaliť senzoricky aktívne látky v zmesi a zistiť ich jednotlivý odorický príspevok k celkovej aróme šťavy. Podrobné podmienky extrakcie aj chromatografických analýz sú uvedené v publikácii Sádecká a kol. [6].

Jednotlivé látky tvoriace prchavú frakciu analyzovanej pomarančovej šťavy boli identifikované na základe porovnania hmotnostných spektier (MS), lineárnych retenčných indexov (LRI), analýz štandardných látok (ST), popisu arómy (OD) a údajov z literatúry (LIT) o prítomnosti týchto látok v danej matici [3, 6, 7]. LRI jednotlivých zlúčenín boli vypočítané podľa rovnice Van den Doola a Kratza [8], pričom boli použité C₇-C₁₄ alkány ako referenčné zlúčeniny, a porovnané s LRI štandardných látok z internej databázy. Všetky štandardy prchavých látok boli darom od Bedoukian Research (Danbury, Connecticut, USA). Identifikácia látok na základe hmotnostných spektier bola uskutočnená prostredníctvom WILEY a NIST MS databáz (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA).

Obsah jednotlivých zlúčenín zistený prostredníctvom GC-MS analýz bol vypočítaný metódou vnútornej normalizácie a vyjadrený formou relatívneho percentuálneho zastúpenia. Výsledky GC-FID/O analýz boli vyjadrené ako priemerné hodnoty olfaktorických intenzít v škále od 0 po 3 s intervalom 0,5 získané z troch nezávislých meraní pre jednotlivé aróma-aktívne zlúčeniny tvoriace arómu.

Výsledky

Na základe GC-MS analýz bolo v pomarančovej šťave identifikovaných 35 látok prislúchajúcich predovšetkým k terpénom, terpenickým alkoholom, aldehydom, alkoholom a esterom. V profile prchavých látok šťavy analyzovanej okamžite po zabalení dominoval svojím zastúpením D-limonén, nasledovali ďalšie terpeny β-myrcén, valencén, α-pinén, γ-terpinén, δ-3-karén a terpenické alkoholy ako linalool, α-terpineol a terpinén-4-ol. Z ďalších látok boli vo väčšej miere zastúpené dekanal, oktanal, nonanal, oktanol a etyl butanoát.

V priebehu skladovania bol v obidvoch atmosférach pozorovaný mierny nárast relatívneho zastúpenia niektorých monoterpénov, napr. α-pinénu, δ-3-karénu, γ-terpinénu, β-myrcénu a seskviterpénu valencénu, a naopak, pokles relatívneho zastúpenia dekanalu. Ďalšie zlúčeniny, predovšetkým terpenické alkoholy α-terpineol, terpinén-4-ol a linalool, ale taktiež oktanol a etyl butanoát, preukázali nárast relatívneho zastúpenia iba v konvenčnej atmosfére, pričom najvýraznejší bol po ukončení tretieho mesiaca skladovania.

S cieľom podrobne charakterizovať organoleptické vlastnosti poskytnutých štiav bola prchavá frakcia každej vzorky analyzovaná aj prostredníctvom GC-FID/O, čo umožnilo určiť senzoricky významné látky pomarančovej šťavy, teda tie, ktoré sú pre jej celkovú arómu kľúčové. Súčasne bolo možné sledovať zmeny v intenzite individuálnej arómy tej-ktorej aróma-aktívnej zlúčeniny počas skladovania šťavy. Zaznamenaných bolo 24 kľúčových aróma-aktívnych zlúčenín (Tab. 1), pričom jednu látku sa nepodarilo identifikovať (neznáma látka č. 24), keďže jej obsah v analyzovanej šťave bol pod limitom detekcie FID aj MS detektora.

Výsledky GC-FID/O analýz preukázali, že najvýznamnejšie aróma-aktívne zlúčeniny pomarančovej šťavy sú D-limonén, Z-β-ocimén, δ-3-karén, α-terpinolén^t, linalool, L-limonén^t a dekanal. Svojou vysokou intenzitou arómy (stupeň 2 až 3) ovplyvňujú tieto látky rozhodujúcou mierou organoleptickú kvalitu šťavy. (E)-2-hexenal, D-limonén, (Z)-β-ocimén, α-terpinolén^t, linalool, perilaldehyd a neznáma látka č. 24 sa ukázali ako senzoricky najstabilnejšie zlúčeniny počas celej skladovacej periódy a to v obidvoch typoch atmosfér. Niektoré látky sa senzoricky prejavili len v jednej z atmosfér, konkrétne geranyl acetát iba v dusíkovej a hexanal a δ-kadinén iba v konvenčnej atmosfére.

Tab. 1: Aróma-aktívne zlúčeniny pomarančovej šťavy s dužinou produkovanej v dusíkovej (N₂) a v konvenčnej (O₂) atmosfére detegované prostredníctvom GC-FID/O analýz.

Č.	LRI	Zlúčenina	Olfaktorické intenzity arómy počas skladovania										Popis arómy	Identifikácia
			0. mesiac		1. mesiac		2. mesiac		3. mesiac		4. mesiac			
			O ₂	N ₂	O ₂	N ₂	O ₂	N ₂	O ₂	N ₂	O ₂	N ₂		
1	772,4	hexanal	0,5	—	0,5	—	0,5	—	0,5	—	0,5	—	oriešková, horká	LRI, MS, ST, OD, LIT
2	782,9	etyl butanoát	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	2	ovocná, jablková, sladká	LRI, MS, ST, OD, LIT
3	822,8	(E)-2-hexenal	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	zelená, listová, ako jablkové jadierka, horká	LRI, MS, ST, OD, LIT
4	926,6	α-pinén	1	1	—	—	0,5	0,5	—	—	0,5	—	ostrá, borovicová, terpenická	LRI, MS, ST, OD, LIT
5	979,1	oktanal	1	—	1	—	1	0,5	1	0,5	1	1	citrusová, zelená, horká, tuková	LRI, MS, ST, OD, LIT
6	981,8	β-myrcén											balzamická, ako chmeľová silica	
7	1001,3	δ-3-karén	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	terpentín, sladko citrusová, ostrá	LRI, MS, ST, OD, LIT
8	1005,9	α-terpinén	0,5	—	0,5	—	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	balzamická, bylinná, ako majorán	LRI, MS, ST, OD, LIT
9	1008,6	p-cymén	1	—	1	—	1	1	1	1	1	1	citrusová kôra, svieža, ako výfukové splodiny	LRI, MS, ST, OD, LIT
10	1018,1	D-limonén	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	citrusová, terpenická, ako citrusová kôra	LRI, MS, ST, OD, LIT
11	1018,5	(Z)-β-ocimén	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	zelená, sladká, ako limetka, citrón, pomaranč,	LRI, MS, ST, OD, LIT
12	1054,3	oktanol	1	1	1	1	1	1	1	1,5	1	1,5	bylinná, zemitá, vosková	LRI, MS, ST, OD, LIT
13	—	α-terpinolén ^t	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	hribová, plastelínová	MS, OD, LIT
14	1081,4	nonanal	—	—	1	—	2	—	2	—	2	—	mydlovo-ovocná, vosková, lojová	LRI, MS, ST, OD, LIT
15	1083,0	linalool	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	osviežujúca, kvetinová, vonná	LRI, MS, ST, OD, LIT
16	1102,2	ethyl 3-hydroxyhexanoát	—	—	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	dymová, kožená, tabaková	LRI, MS, ST, OD, LIT
17	—	L-limonén ^t	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	svieža, kvetinová, ruža, ako sladký pomaranč	OD, LIT
18	1157,1	terpinén-4-ol	1	—	1	1,5	2	1,5	1	1	1	1	zemitá, drevitá, potuchnutá, vosková	LRI, MS, ST, OD, LIT
19	1180,3	dekanal	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	ako pomarančová kôra, vosková	LRI, MS, ST, OD, LIT
20	—	perilaldehyd ^t	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	svieža, bylinková, korenistá, ako rasca	MS, OD, LIT
21	1285,3	undekanal	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1	1	1,5	1,5	tuková, vosková s tónmi pomaranča a ruže	LRI, MS, ST, OD, LIT
22	1360,0	geranyl acetát	—	0,5	—	0,5	—	0,5	—	0,5	—	0,5	svieža, zelená, levanduľová	LRI, MS, ST, OD, LIT
23	—	δ-kadinén ^t	1	—	1	—	1	—	1	—	1	—	tymián, sladkastá, bylinková, drevitá	MS, OD, LIT
24	—	neznáma ^o	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	príjemná, kvetinová, ovocná, ako aviváž	—

Látky boli identifikované na základe nasledujúcich kritérií: LRI - lineárny retenčný index, MS - hmotnostné spektrum, ST - porovnanie s analýzou štandardu látky, OD - popis arómy, LIT - referencia z literatúry. ^t - predbežná identifikácia (len na základe hmotnostného spektra), ^o - detegované iba olfaktometricky

V priebehu skladovania šťavy bol pozorovaný nárast v intenzite arómy etyl butanoátu a undekanal v oboch atmosférach. Nárast intenzity oktanolu a β -myrcénu+oktanalu sa objavil iba v dusíkovej atmosfére, v konvenčnej atmosfére bola intenzita týchto látok stabilne na úrovni 1 počas celého trvania experimentu. Naopak, intenzita nonanal vzrástla iba v konvenčnej atmosfére, v dusíkovej atmosfére nebola táto látka senzoriicky aktívna. Klesajúci trend bol zistený pre δ -3-karén a dekanal v dusíkovej a pre L-limonén[†] v oboch atmosférach.

Väčšina z vyššie uvedených zmien sa odohrala po ukončení druhého mesiaca skladovania, čo je v dobrej zhode s výsledkami predchádzajúcej štúdie [6] hodnotiacej vplyv skladovania na rovnaký typ pomarančovej šťavy s dužinou balenej v konvenčnej („kyslíkovej“) atmosfére.

S ohľadom na zhodnotenie potenciálu oboch sledovaných produkčných atmosfér ochrániť jednotlivé zložky arómy pomarančovej šťavy s dužinou pred nežiaducimi zmenami, je nutné spomenúť, že v priebehu skladovania bol pozorovaný vznik niektorých aldehydov, ako typických produktov oxidačných procesov v potravinách, predovšetkým v šťavách produkovaných v konvenčnej („kyslíkovej“) atmosfére. Napríklad hexanal, ktorý je typickým markerom „off-flavour“ efektov, a tiež nonanal - oba aldehydy boli senzoriicky aktívne iba v konvenčnej atmosfére. Perilaldehyd bol senzoriicky zaznamenaný v oboch atmosférach ale v konvenčnej sa prejavil výraznejšie. Intenzita arómy dekanalu poklesla v dusíkovej atmosfére zo stupňa 2 na 1 avšak v konvenčnej zostala stabilne na úrovni 2 počas celej doby skladovania. Len undekanal preukázal trend rastu v oboch atmosférach.

Pozorované zmeny v intenzite arómy niektorých aldehydov sú pravdepodobne dôvodom zhoršenia organoleptických vlastností šťavy produkovanej v konvenčnej atmosfére, ktoré nastalo v priebehu druhého ale predovšetkým tretieho mesiaca skladovania. Konkrétne bol pozorovaný vzostup horkej a adstringentnej (zvieravej) chuti produktu, strata čerstvosti a sladko ovocnej, typicky pomarančovej, chuti i vône a taktiež nežiaduca zmena farby zo žiarivého jasnožltého odtieňa na žltohnedý. Naopak, šťava vyrobená a balená v dusíkovej atmosfére si udržala štandardné organoleptické vlastnosti porovnateľné s čerstvým produktom počas celej doby skladovania.

Záver

GC-MS a GC-FID analýzy prchavej frakcie čerstvej pomarančovej šťavy s dužinou umožnili identifikáciu 35 prchavých zlúčenín a paralelné GC-FID/O merania odhalili z nich 24 kľúčových odorantov, ktoré boli pri daných koncentráciách aj senzoriicky aktívne. Zlúčeniny podieľajúce sa najväčšou mierou na charaktere arómy boli D-limonén, (Z)- β -ocimén, δ -3-karén, α -terpinolén[†], linalool, L-limonén[†] a dekanal. Výsledky skladovacieho experimentu ďalej ukázali, že produkcia pomarančových štiav s dužinou v dusíkovej atmosfére môže zabrániť niektorým zmenám v zložení prchavej frakcie, predovšetkým tvorbe aldehydov, ktoré predstavujú typické markery oxidačných dejov prebiehajúcich v potravinách, a zachovať tak štandardné organoleptické vlastnosti štiav počas celej doby trvanlivosti.

Práca je súčasťou výskumného projektu „Zlepšenie výživových a senzoriických parametrov ovocných a zeleninových nápojov aplikáciou inertných plynov“ (ITMS 26220220175) podporovaného Operačným programom Výskum a vývoj, ktorý je financovaný z ERDF. Vďaka patrí spoločnosti McCarter, a.s. za ústretovú spoluprácu a poskytnutie vzoriek pomarančovej šťavy.

Zoznam použitej literatúry

- [1] Seideneck R., Schieberle P.: Eur. Food Res. Technol. 232 (2011), 995–1005.
- [2] Brat P., Rega B., Alter P., Reynes M., Brillouet J. M.: J. Agric. Food Chem. 51 (2003), 3442–3447.
- [3] Auerbeck M., Schieberle P.: Eur. Food Res. Technol. 229 (2009), 611–622.
- [4] Auerbeck M., Schieberle P.: Eur. Food Res. Technol. 32 (2011), 129–142.
- [5] Jordán M. J., Goodner K. L., Laencina J.: Lebensm. Wiss. Technol. 36 (2003), 391–396.
- [6] Sádecká J., Polovka M., Kolek E., Belajová E., Tobolková B., Daško L., Durec J.: J. Food Nutr. Res. 53, (2014), 371–388.
- [7] Cerdán-Calero M., Sendra J. M., Sentandreu E.: J. Chromatogr. A 1241, (2014), 84–95.
- [8] Van den Dool H., Kratz P.: J. Chromatogr. 11 (1963), 463–471.

R 27**BORŮVKY: CHARAKTERIZACE PRO ÚČELY HODNOCENÍ AUTENTICITY VÝROBKŮ Z NICH**

Neradová E., Al-Balaa D., Haubeltová A., Kvasnička F., Čížková H.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Úvod

Problematika falšování a detekce autenticity výrobků z ovoce je v současnosti stále aktuální. Mezi spotřebitelsky oblíbené bobulové ovoce patří borůvky kvůli jejich senzoryckým vlastnostem, ale také pro jejich pozitivní účinky na zdraví (antioxidační vlastnosti, léčba střevních obtíží, zánětů močových cest). Podle ČSN 46 3032 se posuzují kvalitativní požadavky na čerstvé plody borůvek do tří jakostních tříd:

- Výběr (ojíněné a neslepené bobule, nejsou povoleny vady – výjimečně velmi lehké povrchové poškození, které nesmí zhoršovat vzhled, jakost a uchovatelnost výrobku),
- I. Jakost (ojíněné a neslepené bobule, povolené lehké odchylky – lehká vada vybarvení, vývinu, mírně zavadlé bobule),
- II. Jakost (musí zůstat zachovány základní znaky jakosti a uchovatelnosti, povolené vady – vady vybarvení, vývinu, zavadlé bobule, lehký výtok šťávy z bobulí).

Podle evropských zvyklostí tato norma také rozděluje borůvky na dvě základní skupiny a to na plody druhů *V. myrtillus* L. (brusnice borůvka, lesní borůvka) a *V. corymbosum* L. (brusnice chocholičnatá, kanadská borůvka). Obecně je však známo okolo 400 druhů borůvek (rod *Vaccinium*, čeleď Ericaceae). Lesní borůvka se získává samosběrem během července a srpna v jehličnatých lesích mírného pásu Evropy. Kanadská borůvka, která je původem z USA, je cíleně pěstována a šlechtěna po celém světě. Jednotlivé odrůdy se pak liší především v ranosti (rané, středně rané, pozdní), odolnosti a výnosnosti keřů, velikosti, barvě a chuti plodů. Mezi nejznámější odrůdy patří Bluecrop, Patriot a Duke. 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*). 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. Při posuzování autenticity výrobků z ovoce se pro srovnání využívají údaje v dostupných databázích jako je Code of Practice of the European Fruit Juice Association, Souci-Fachmann-Kraut food composition and nutrition tables a United States Department of Agriculture National Nutrient Database for Standard Reference. Protože je však pro jednotlivé ovocné druhy obtížné identifikovat unikátní znaky autenticity, tak se obvykle hodnotí a statisticky zpracovává soubor 10 - 15 chemických markerů, mezi které patří např. rozpustná sušina, obsah a zastoupení organických kyselin, volných aminokyselin a sacharidů a obsah vybraných minerálních látek.

Problémem je především to, že některé databáze markery pro borůvky neobsahují vůbec, nebo jen v omezené míře či jsou uvedeny pouze průměrné hodnoty pro jeden druh anebo naopak jsou uvedeny velké rozsahy pro daný marker. Proto bylo pro ověření autenticity výrobků z borůvek nejprve potřeba charakterizovat vstupní surovinu, tj. určit typické znaky různých druhů borůvek, ověřit přirozenou variabilitu a změny ve složení. Byly zhodnoceny možné vlivy na vstupní surovinu a navržena metodika pro posouzení autenticity výrobků z borůvek.

Vzorky

V sezoně 2014 bylo získáno zakoupením v tržní síti a samosběrem 17 autentických vzorků plodů borůvek. Z toho bylo 10 vzorků borůvek lesních (převážně z České Republiky) a 7 vzorků borůvek kanadských (ze zemí EU a mimo EU). Z toho bylo 14 vzorků čerstvých borůvek a 3 vzorky mražených borůvek.

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.

Výsledky a diskuze

Cílem bylo především určit typické znaky různých druhů borůvek, ověřit přirozenou variabilitu a změny ve složení. Výsledky autentických vzorků byly srovnány s literaturou a po zhodnocení variability a potenciálních vlivů byla navržena střední hodnota pro posouzení autenticity (Tab. 1).

Rozpustná sušina a profil sacharidů jsou ovlivňovány stupněm zralosti plodů a klimatickými podmínkami. Především poměr glukosy a fruktosy se v závislosti na stupni zralosti a délce skladování plodů mění. U obou druhů borůvek nebyla zjištěna přítomnost sorbitolu ani sacharosy, přestože Databáze Souci-Fachmann-Kraut uvádí průměrnou koncentraci sacharosy v lesních borůvkách 2,4 g/kg. Mezi lesními a kanadskými borůvkami nebyly u rozpustné sušiny, fruktosy, sacharosy a sorbitolu zjištěny statisticky významné rozdíly. Rozdíl byl zjištěn pouze u glukosy, kdy v lesních borůvkách byla koncentrace nižší než v kanadských.

Také titrační kyselost a profil kyselin jsou převážně ovlivňovány stupněm zralosti plodů a klimatickými podmínkami. Majoritní kyselinou je kyselina citronová, přičemž její obsah se společně s kyselinou chinovou během zrání snižuje a naopak obsah kyseliny jablečné se zvyšuje. Mezi lesními a kanadskými borůvkami nebyl u obsahu kyseliny citronové zjištěn statisticky významný rozdíl. Naopak významné rozdíly byly zjištěny u titrační kyselosti a ostatních kyselin (jablečná, chinová, šikimová, isocitronová). Celkově lesní borůvky obsahují významně vyšší obsah kyselin než kanadské borůvky. Oproti jiným druhům ovoce je ve značném množství obsažena kyselina chinová (0,4 – 9,4 g/kg, průměrně 4,4 g/kg).

Borůvky jsou velmi bohaté na minerální látky. Celkově je obsah minerálních látek ovlivněn především klimatickými a půdními podmínkami, hnojením, ale také odrůdou borůvek. Nejvíce je zastoupen draslík, dále pak fosfor, vápník a hořčík. Mezi lesními a kanadskými borůvkami nebyl u popelu a draslíku zjištěn statisticky významný rozdíl. Naopak významné rozdíly byly zjištěny u obsahu fosforu, vápníku a hořčíku.

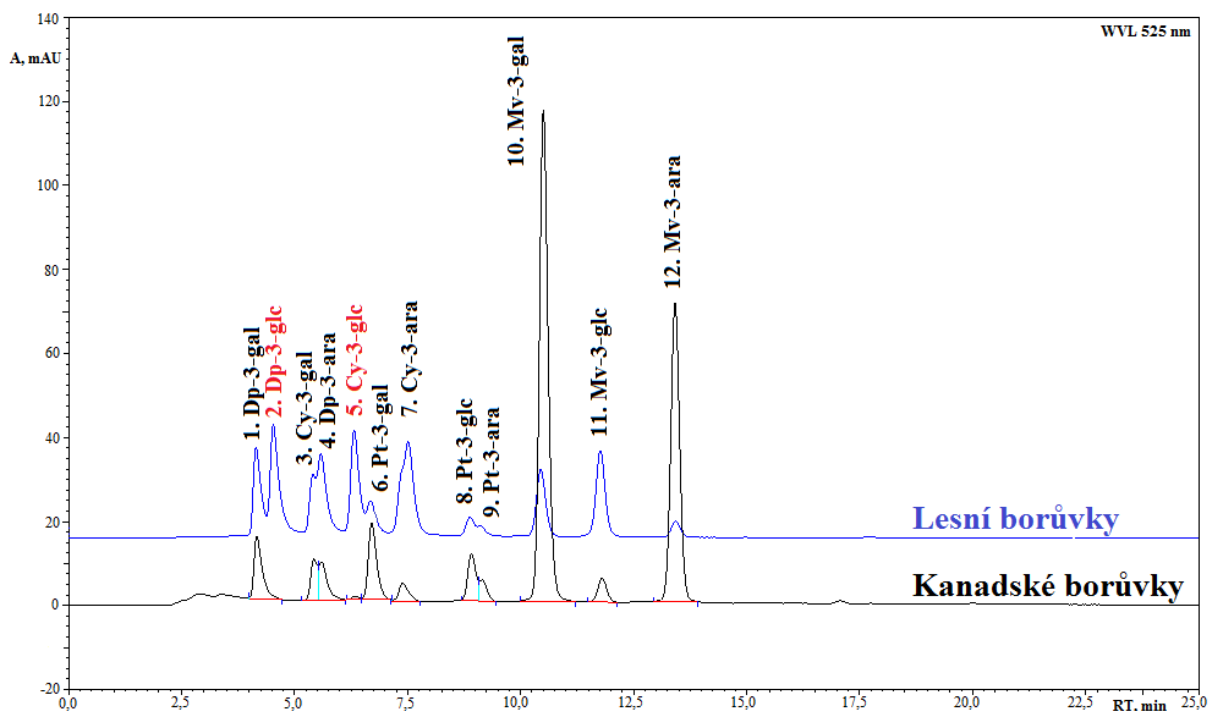
Celkový obsah aminokyselin vyjádřený jako formolové číslo je poměrně nízký. Mezi lesními a kanadskými borůvkami byl zjištěn statisticky významný rozdíl, přičemž kanadské borůvky oproti lesním borůvkám obsahují dvojnásobný obsah aminokyselin.

Lesní borůvky jsou celkově na anthokyaniny bohatší, bylo v nich identifikováno celkem 12 nejvýznamnějších anthokyanů, také celková koncentrace anthokyanů je cca 20 x vyšší (Obr. 1). V obou vzorcích byly nalezeny tyto anthokyaniny: delfinidin-3-glukosid (del-3-gal), kyanidin-3-galaktosid (cya-3-gal), delfinidin-3-arabinosid (del-3-ara), petunidin-3-galaktosid (pet-3-gal), kyanidin-3-arabinosid (cya-3-ara), petunidin-3-glukosid (pet-3-glu), petunidin-3-arabinosid (pet-3-ara), peonidin-3-glukosid (peo-3-glu), malvinidin-3-galaktosid (mal-3-gal), malvinidin-3-glukosid (mal-3-glu) a malvinidin-3-arabinosid (mal-3-ara). V lesních borůvkách byl navíc nalezen delfinidin-3-glukosid (del-3-glu) a ve výrazně vyšší koncentraci cy-3-glc (kyanidin-3-glukosid).

Tab. 1 Zhodnocení přirozené variability a navržené středních hodnot markerů pro posuzování autenticity výrobků z borůvek

Marker	Druh borůvek	Naměřené rozsahy vzorků borůvek	Průměr		Rozsahy z literatury	Navržená střední hodnota pro posuzování autenticity
Rozpuštná sušina (°Brix)	Lesní borůvky	9,7 - 11,6	10,6	10,6	10,0 - 11,1	10,6
	Kanadské borůvky	9,6 - 12,5	10,6		11,5 - 14,7	
Titrační kyselost (g kys. citronové/kg)	Lesní borůvky	10,3 - 14,0	12,1	10,7	10,0 - 38,0	11,1
	Kanadské borůvky	4,9 - 15,6	8,7		5,0 - 23,0	
Formolové číslo (ml 0,1 M NaOH/100g)	Lesní borůvky	2,7 - 4,9	4,2	6	1,3 - 5,0	5
	Kanadské borůvky	3,5 - 15,2	8,4		2,9 - 12,0	
Glukosa (g/kg)	Lesní borůvky	21,7 - 36,9	29,9	36,5	24,6 - 32,9	35,3
	Kanadské borůvky	40,2 - 57,1	45,8		26,2 - 54,8	
Fruktosa (g/kg)	Lesní borůvky	30,8 - 48,5	41,4	43,6	32,9 - 38,1	40,1
	Kanadské borůvky	43,4 - 50,1	46,5		25,3 - 56,0	
Sacharosa (g/kg)	Lesní borůvky	nd	-	-	1,5 - 2,5	0
	Kanadské borůvky	nd	-		0,9 - 1,1	
Sorbitol (mg/kg)	Lesní borůvky	nd	-	-	nd	0
	Kanadské borůvky	nd	-		nd	
Kys. citronová (g/kg)	Lesní borůvky	4,9 - 6,7	5,6	6	5,2 - 5,7	5,7
	Kanadské borůvky	3,1 - 8,9	6,5		1,7 - 9,4	
Kys. jablečná (g/kg)	Lesní borůvky	2,3 - 3,9	3	1,9	1,9 - 8,5	2,3
	Kanadské borůvky	0,2 - 0,4	0,3		0,5 - 5,0	
Kys. chinová (g/kg)	Lesní borůvky	5,0 - 9,4	6,9	4,4	0,3 - 5,3	2,8
	Kanadské borůvky	0,4 - 1,4	0,9		0,3 - 0,8	
Kys. šikimová (mg/kg)	Lesní borůvky	54,3 - 182,4	87,4	60,8	220,0 - 240,0	58,7
	Kanadské borůvky	6,7 - 48,6	22,8		13,0 - 68,0	
Kys. isocitronová (mg/kg)	Lesní borůvky	15,7 - 21,3	18,7	28,3	13,0 - 50,0	34
	Kanadské borůvky	26,0 - 71,7	42,1		35,0 - 117,0	
Popel (g/kg)	Lesní borůvky	2,2 - 3,0	2,5	2,3	1,56 - 4,31	2,2
	Kanadské borůvky	1,5 - 2,8	2,1		0,8 - 2,4	
Fosfor (mg/kg)	Lesní borůvky	165 - 210	191	167	130 - 199	157
	Kanadské borůvky	111 - 145	135		86 - 196	
Draslík (mg/kg)	Lesní borůvky	502 - 951	772	745	780 - 1022	788
	Kanadské borůvky	410 - 905	705		680 - 936	
Vápník (mg/kg)	Lesní borůvky	136 - 257	197	143	100 - 264	135
	Kanadské borůvky	50 - 118	65		0,0 - 250	
Hořčík (mg/kg)	Lesní borůvky	62 - 92	84	71	24 - 59	63
	Kanadské borůvky	38 - 77	52		55 - 80	

Pozn.: Fialově zvýrazněny jsou markery se statisticky významným rozdílem mezi lesními a kanadskými borůvkami na hladině významnosti $\alpha=0,1$ (Dvouvýběrový T-test s rovností rozptylů).



Obr. 1 Porovnání profilu anthokyanů v lesních (20x naředěny) a kanadských borůvkách

Závěr

Bylo zjištěno, že lesní a kanadské borůvky se prokazatelně liší ve většině stanovovaných markerů (formolové číslo, titrační kyselost, glukosa, kyselina jablečná, chinová, šikimová a isocitronová, fosfor, vápník a hořčík). 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 %. Možností se zdá být využití charakteristického profilu anthokyanů, pro tento účel je však nutné vytvořit rozsáhlou databázi profilu anthokyanů jak lesních a kanadských borůvek tak dalších případných složek tohoto typu výrobků (barvicí extrakty/potraviny, kamčatská a amelanchierova borůvka).

Poděkování

Tento projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015): A2_FPBT_2015_012, A1_FPBT_2015_002.

Literatura:

1. WALLRAUCH S., GREINER G.: Zur Unterscheidung von Erzeugnissen aus Wild- und Kulturheidelbeeren. *Flüssiges Obst*, 2005, vol. 72, p. 14-17.
2. STARAST M., KARP K., VOOL E., MOOR U., TONUTARE T., PAAL T.: Chemical Composition and Quality of Cultivated and Natural Blueberry Fruit in Estonia. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 2007, vol. 66, p. 143–153.
3. GOIFFON J. P., MOULY P. P., GAYDOU E. M.: Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 1999, vol. 382., p. 39–50.
4. OBÓN J. M., DÍAZ-GARCÍA M. C., CASTELLAR M. R.: Red fruit juice quality and authenticity control by HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, vol. 24, p. 760–771.

R 28**TECHNOLOGICKÉ ASPEKTY PRŮMYSLOVÉHO ZPRACOVÁNÍ MEDU**

Kružík V., Vrácovská E., Grégrová A., Štětina J., Hrádková I., Čížková H.
Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Úvod

Med je přírodní komplexní produkt vytvářený včelou medonosnou, latinsky *Apis mellifera*, z nektaru či medovice, a je složen převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pylových částic. Složení a vlastnosti medu jsou variabilní a závisí především na jeho botanickém původu a na klimatických podmínkách. Kvalitu medu na českém trhu však do velké míry ovlivňuje způsob zpracování.

Za zhoršením pověsti medu pro spotřebitele stojí především nárůst případů výskytu záměrně falšovaného medu s obsahem nepovolených cukerných a jiných složek. Z pohledu technologie medu je jedním z nejrizikovějších kroků jeho nadměrné tepelné ošetření během kroku předeřtí a pasterace. To má za následek zvýšení obsahu hydroxymethylfurfuralu (HMF) a rozklad zdraví prospěšných látek obsažených v medu. Problémem při technologickém zpracování medu bývá také jeho pění, kterému se věnuje tato práce.

Pěna v medu je tvořena bílkovinami, pylovými částicemi, různými nečistotami a vzduchovými bublinami. Bílá vrstva v horní části medu, se kterou se můžeme setkat jak během výroby (Obr. 1), tak jako spotřebitelé na povrchu baleného medu (Obr. 2), není ale známkou zhoršené kvality či nesprávného výrobního postupu a nejsou jí ani ovlivněny senzorické vlastnosti medu. Bylo zjištěno, že se velikost bublin v pěnách snižuje se snižující se intenzitou míchání, se snižující se viskozitou a koncentrací povrchově aktivních látek, jako jsou bílkoviny. Mezi parametry ovlivňující vznik pěn patří také rychlost průtoku tekutiny, tlak a teplota směsi.

Obvyklý postup průmyslového zpracování medu sestává ze čtyř základních kroků: předeřtí, filtrace, zahuštění a pasterace. Nejprve je med předeřtíván ve dvouplášťových tancích na teplotu max. 50 °C, aby došlo k jeho ztekucení. Dále je možno provádět filtraci medu k odstranění nečistot, pylových částic a mikroorganismů. Legislativně je filtrace povolena, pokud je na etiketě uvedeno, že se jedná o filtrovaný med. Zařazena bývá také vakuová odparka se stékajícím filmem, v níž dojde k zakoncentrování medu. Právě v této části dochází k výraznému pění. Dále je provedena pasterace medu při teplotách nad 65 °C, a to z důvodu inaktivace mikroorganismů a zpomalení krystalizace. Následně je med chlazen, stáčen a balen do spotřebitelského balení. Med by měl být skladován při teplotě do 20 °C, při relativní vlhkosti vzduchu do 65 % a v temnu.

Na českém trhu se můžeme setkat s medem přímo od včelařů (malovýrobců) či medem pocházejícím z velkých provozoven. V případě medu přímo od včelařů spočívá zpracování pouze ve vytočení, případně ztekucení či pastování. Průmyslová velkovýroba medu je více komplikovaná. Všechny kroky musí být vzhledem k hygienickým, senzorickým a legislativním požadavkům optimalizovány. Tato studie se zabývá jedním z nežádoucích technologických znaků medu, a to pění, které výrazně zpomaluje výrobu, případně je původcem pěny v konečném výrobku.

Cílem výzkumu bylo zjistit, co tento jev převážně způsobuje a zda může být predikován. Během průmyslové výroby medu byly odebrány jednotlivé fázové vzorky a u nich změřena řada fyzikálně-chemických parametrů. Mezi jednotlivými sledovanými parametry, podmínkami výroby a tendencí vytvářet pěnu byla zjišťována vzájemná souvislost a korelace.



Obr. 1 a 2 Pěna na povrchu průmyslově zpracovávaného a baleného medu

MATERIÁL A METODY

K analýzám potřebným pro určení faktorů ovlivňujících pění medu byly nejprve odebrány vzorky medu přímo od výrobce, přičemž se jednalo o smíšený med jedné šarže, který byl odebrán v různých částech výroby. Vzorky č. 1 až 5 byly odebrány cca 1 hodinu po spuštění výroby a vzorky č. I až III byly odebrány ve stejných místech o 3 hodiny později. Místa odběrů jednotlivých vzorků medu jsou uvedena v Tab. 1.

Dále bylo analyzováno 9 vzorků medu s různým stupněm pěnivosti pro zhodnocení faktorů ovlivňujících pění; analyzovány byly vždy po třech vzorky různých šarží dodané a specifikované výrobcem, které byly rozděleny do tří skupin na nepěnicí, pěnicí středně a pěnicí nejvíce (Tab. 2).

U všech vzorků medu byla změřena viskozita (při 25 °C; rotační reometr) a povrchové napětí (v 5, 10, 15 % hm. vodném roztoku; při 20 °C; tensiometricky kroužkovou metodou), jakožto faktory ovlivňující pění; stanoveny byly také pevné látky nerozpustné ve vodě gravimetricky, hustota pyknometricky, titrační kyselost (TK) titračně a bílkoviny, které jsou součástí pěny (pro výpočet obsahu bílkovin bylo použito titračně stanovené formolové číslo, FČ). Z důvodu potřeby zhodnocení, zda nedochází k významným změnám chemického složení vzorků medu během výroby, byl stanoven i obsah vody pomocí digitálního refraktometru.

Vzájemný vliv naměřených parametrů byl zhodnocen pomocí korelační matice. Pro zhodnocení vlivu jednotlivých výrobních kroků na parametry ovlivňující pění byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA). Pro statistickou analýzu byl využit program Statistica 12.

Tab. 1 Analyzované vzorky medu z různých částí výroby

Číslo vzorku	Fáze odběru	Číslo vzorku	Fáze odběru
1, I	zásobní tank, vstup, před filtry	4	za odparkou, bez chlazení
2, II	před pastérem, za filtry	5	za odparkou, po chlazení, uskladnění
3, III	za výdržníkem pastéru, před odparkou		

Tab. 2 Analyzované vzorky medu s různým stupněm pěnivosti a jejich základní chemické vlastnosti

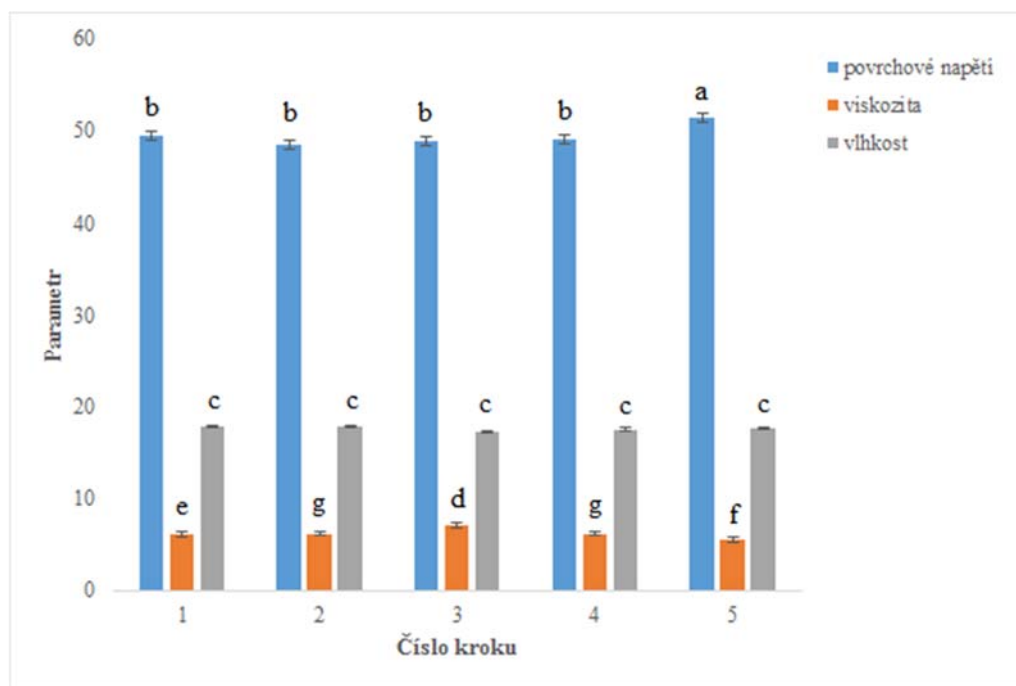
Vzorek	Pěnivost během výroby	HMF (mg·kg ⁻¹)	DN (stupně Schadeho)	Obsah vody (g/100 g)	pH	Kyselost (mekv·kg ⁻¹)
A	Nepění	11,43	14,4	17,0	4,3	11,79
B	Nepění	12,13	14,0	17,4	4,3	13,01
C	Nepění	11,78	16,0	17,7	4,2	13,09
D	Pění středně	17,56	15,0	17,1	4,0	13,14
E	Pění středně	18,21	14,6	17,3	4,0	13,54
F	Pění středně	18,93	13,1	16,8	4,0	13,92
G	Pění nejvíce	26,60	13,0	17,3	4,1	15,33
H	Pění nejvíce	19,48	14,6	17,3	4,2	15,45
I	Pění nejvíce	15,46	16,9	17,0	4,0	17,94

VÝSLEDKY A DISKUSE

V reálných podmínkách velkovýroby medu bylo hodnoceno, zda je možno úpravou podmínek zpracování významně snížit pěnovost medu, nebo zda je pění především následkem chemicko-fyzikálních vlastností vstupní suroviny a jednotlivé technologické kroky mají vliv jen omezený.

Na vznik pěny během výroby mají podle literárních údajů vliv především viskozita a povrchové napětí, které jsou funkcí teploty. Čím teplejší med přichází do výroby, tím se vytváří méně pěny; toto vyplývá i ze zkušeností technologů podniku. Aktuální nastavení jednotlivých kroků ve výrobě však příliš sledované parametry neovlivňuje. Po zpracování naměřených dat bylo určeno, že na povrchové napětí má vliv chlazení za odparkou, a na viskozitu má největší vliv pastér. Průměrné hodnoty parametrů (povrchového napětí, viskozity a obsahu vody) v závislosti na jednotlivých krocích výroby jsou znázorněny na Obr. 3, kde je také pomocí písmen *a* až *g* označena významnost ($p < 0,05$) daného výrobního kroku. Kroky označené stejným písmenem významnosti znamenají, že mezi nimi z hlediska daného parametru není rozdíl.

Z korelační matice pro 9 vzorků s různým stupněm pěnovosti (Tab. 3) vyplynula korelace mezi obsahem pevných látek ve vodě nerozpustných a FČ, TK, povrchovým napětím (5 %) a stupněm pěnovosti. Dále korelovalo FČ s TK, povrchovým napětím (5 %) a stupněm pěnovosti. Záporná korelace byla prokázána mezi TK a povrchovým napětím (5 %) a mezi obsahem vody a viskozitou (25 °C). Kladná korelace byla zjištěna mezi povrchovým napětím (5 a 15 %), TK a stupněm pěnovosti. Předpokládaná korelace mezi viskozitou a povrchovým napětím nebyla potvrzena, zřejmě z důvodu malého souboru vzorků. V Tab. 4 jsou následně znázorněny průměrné hodnoty parametrů ovlivňujících pění medu změřené pro 3 skupiny vzorků medu s odlišnou pěnovostí.



Obr. 3 Významnost výrobních kroků medu na parametry ovlivňující jeho pění (1 = zásobní tank, před filtry; 2 = filtr; 3 = pastér; 4 = odparka; 5 = chlazení; povrchové napětí: $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$; viskozita: $\text{Pa} \cdot \text{s}$; vlhkost (obsah vody): %)

Tab. 3 Korelační matice parametrů stanovených u vzorků medu s odlišnou pěnivostí

	Pevné látky	Hustota	FČ	TK	Obsah vody	Viskozita (25 °C)	Povr. napětí (5 %)	Povr. napětí (15 %)	Pěnivost
Pevné látky	1,00								
Hustota	-0,06	1,00							
FČ	-0,81	-0,27	1,00						
TK	-0,82	-0,13	0,95	1,00					
Obsah vody	0,43	0,19	-0,37	-0,46	1,00				
Viskozita (25 °C)	-0,58	-0,36	0,38	0,32	-0,60	1,00			
Povr. napětí (5 %)	0,81	0,23	-0,67	-0,63	0,21	-0,59	1,00		
Povr. napětí (15 %)	0,42	0,31	-0,36	-0,26	-0,27	-0,33	0,83	1,00	
Pěnivost	-0,91	-0,11	0,83	0,83	-0,27	0,48	-0,84	-0,50	1,00

Pozn.: kritická mez pro korelační koeficient r v případě 9 vzorků (na hladině pravděpodobnosti $\alpha = 95 \%$) = **0,60**.

Tab. 4 Zhodnocení vlivu chemického složení a fyzikálních vlastností medu na parametry ovlivňující jeho pění

Pěnivost medu	Pevné látky ve vodě nerozpustné (%)	Bílkoviny (FČ; ml NaOH na 100 g)	Titrační kyselost (mekv·kg ⁻¹)	Povrchové napětí (mN·m ⁻¹ , 5 %)
Nepění	0,049 ± 0,001	3,33 ± 0,10	12,84 ± 0,04	56,2 ± 1,23
Pění středně	0,027 ± 0,001	4,11 ± 0,21	13,17 ± 0,09	53,8 ± 0,77
Pění nejvíce	0,007 ± 0,001	5,32 ± 0,11	13,44 ± 0,06	51,7 ± 0,63

ZÁVĚR

Bylo zjištěno, že pění medu ovlivňují převážně jiné faktory než aktuálně nastavené kroky ve výrobě, tj. především kvalita a složení vstupní suroviny.

Pro predikci míry pění by bylo vhodné do provozních postupů kontroly surového medu zařadit stanovení formolového čísla (pro obsah bílkovin) a povrchového napětí, podle jejichž výsledků by bylo následně operativně možné změnit standardní nastavení podmínek výroby (teplotní režim pastéru, tlak v odparce).

Z pohledu možnosti optimalizace výroby medu by bylo vhodné se zaměřit na krok míchání (snížení otáček míchadla) a podmínky na odparce. U dalších možností uvedených v odborné literatuře (tlaková membránová filtrace, zvýšení teploty v celém systému) existuje opodstatněná obava, že vhodné kroky vedoucí k eliminaci pěnivosti během výroby zároveň povedou k zásadnímu zhoršení výživových a kvalitativních vlastností finálního výrobku.

PODĚKOVÁNÍ

Autoři by rádi poděkovali společnosti Medokomerc, s.r.o. a Product Bohemia, s.r.o. za poskytnutí vzorků. Studie byla financována díky udělené dotaci v rámci poskytnutí podpory podnikatelům prostřednictvím projektu Inovační vouchery v Praze – výzva 2014 a z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015): A1_FPBT_2015_002.

POUŽITÁ LITERATURA

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

ČSN 57 0190: *Metody zkoušení včelího medu*. Praha: Vydavatelství Úřadu pro normalizaci a měření, 1974.

El-Biale N. M., Sorour M. A.: *International Journal of Applied Science and Technology*, (2011) 1: 122-133.

Mehryar L., Esmaili M.: *Department of Food Science and Technology*, (2011): 1-6.

Bogdanov S., Gallmann P.: *ALP Science*, (2008) 520: 1-12.

http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=2558 (staženo 5. 10. 2014).

Oroian M.: *Journal of Food Engineering*, (2013) 119: 167-172.

Preval E. S., Fabrice D., Gilles M., Gérard C., Samir M.: *Colloids and Surfaces A*, (2014) 442: 88-97.

Saxena S., Gautam S., Sharma A.: *Food Chemistry*, (2010) 118: 391-397.

Özcan M. M., Ölmez G.: *Food Chemistry*, (2014) 163: 212-218.

Lazaridou A., Biliaderis C. G., Bacandritsos N., Sabatiny A. G.: *Journal of Food Engineering*, (2004) 64: 9-21.

R 30**VLIV FENOLOVÝCH ANTIOXIDANTŮ A DALŠÍCH FAKTORŮ NA VZNIK REDUKUJÍCÍCH LÁTEK V MAILLARDOVĚ REAKCI**

Cejpek K., Knitlová P.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

Maillardova reakce (tj. transformace redukujících sacharidů v přítomnosti aminokyselin) je jedním z nejdůležitějších procesů probíhajících při skladování a zpracování potravin. Během ní se vytváří látky chuťové a barevné, produkty s negativním hygienicko-toxikologickým hodnocením i sloučeniny považované za zdraví prospěšné. Z mechanistického pohledu se lze na Maillardovu reakci dívat jako soubor iontových a radikálových reakcí. Některé z těchto procesů zahrnují transfer elektronů mezi reaktanty. Stejně jako v biologických systémech mohou i v Maillardově reakci spřažené redoxní reakce poskytovat energii a být hybnou silou pro vznik jinak nedosažitelných stabilních produktů; jedním z nejznámějších příkladů je oxidace dihydropyrazinů na pyraziny. Vzhledem ke své povaze jsou redoxní procesy pozorovatelné elektrochemicky. Elektrochemie je tak cenným neinvazivním nástrojem, který společně s optickými a dalšími technikami může pomoci poznat mechanismy Maillardovy reakce. V praxi je však elektrochemickým vlastnostem produktů Maillardovy reakce věnována překvapivě nízká pozornost.

Redoxní povahu Maillardovy reakce lze nejlépe zkoumat elektrochemickými metodami. Reverzibilní povaha redoxního procesu vedla k vývoji řady elektroanalytických technik označovaných jako voltametrie. Mezi nimi našla významné místo např. cyklická voltametrie, polarografická technika, ve které je látka oxidována nebo redukována v sekvenci. Novější aplikací jsou amperometrické metody, kdy je elektrochemický detektor spojen s kapalinovou chromatografií. Tato technika umožňuje měřit některé relativně stabilnější produkty a meziprodukty Maillardovy reakce, jako jsou např. Amadoriho produkty a některé heterocyklické sloučeniny. Přímá detekce a kvantifikace reaktivnějších intermediátů je obtížná. Řešením mohou být např. měření v galvanickém článku a cyklická voltametrie.

Galvanická aktivita Maillardovských systémů byla poprvé sledována Rizzim¹ v modelových reakčních směsích hexos a pentos. S použitím platinové redoxní elektrody se zabudovanou argentochloridovou referenční elektrodou byl sledován pokles redoxního potenciálu, který indikuje přítomnost látek schopných redukovat stříbrné ionty. Popsány byly také redoxní potenciály související s redoxními cykly, které zahrnují meziprodukty Maillardovy reakce jako biacetyl, 3-hydroxy-2-butanon, 3-amino-2-butanon a 3-glycino-2-butanon².

Vzhledem ke své redoxní povaze může řízená Maillardova reakce výrazným způsobem určovat redoxní vlastnosti zpracovaných potravin, a v důsledku tak ovlivňovat oxidační i karbonylový stres v lidském těle. Na redoxních vlastnostech zpracovaných potravin se pochopitelně podílejí také skupiny látek přirozeně se vyskytující v potravinových surovinách, označované často jako antioxidanty. Kromě přímo působících reaktantů, jako L-askorbová kyselina, flavonoidy nebo fenolové kyseliny, jsou to i nepřímě působící látky např. typu sekvestrantů, které inaktivují prooxidačně působící složky. Informace o reakcích a interakcích těchto složek s (mezi)produkty Maillardovy reakce jsou až na L-askorbovou kyselinu – sama se po dekarboxylaci chová jako cukr – poměrně skoupé.

Zajímavé jsou potenciální vstupy zejména fenolových látek do Maillardovy reakce a ovlivňování jejích projevů. Popsána je zejména role některých fenolových látek při vývoji aroma prostřednictvím Maillardovy reakce v některých potravinách a reakčních modelech. Významný vliv na mechanismus Maillardovy reakce vykazují někteří zástupci flavonoidů, zejména epikatechin a epigallokatechin gallát (EGCG). Jejich vlastnosti byly zkoumány nejen v modelových systémech Maillardovy reakce, ale i na modelech některých potravin (např. kakaa, mléka). Výsledky některých studií také prokázaly, že flavonoidy z potravin jsou nejen silnými antioxidanty, ale mají i značný potenciál vychytávat reaktivní karbonylové sloučeniny (RCS) a tím zabránit karbonylovému stresu v organismu. V navazující studii byl sledován vliv epikatechinu na tvorbu produktů Maillardovy reakce za podmínek simulující pečení, tj. 10 % vlhkosti, 220 °C po dobu 10 min.

Přídavek epikatechinu do systému glukosy/fruktosy a glycinu snižoval tvorbu aromatických látek, jako je hydroxyaceton, 2-methylpyrazin, 2,3,5-trimethylpyrazin, furan-2-karbaldehyd, 2-acetylfuran, 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehyd, 2(5H)-furanon, 2-acetylpyrrol a furfurylalkohol³.

Epikatechin také působí inhibičně vůči vzniku těkavých sloučenin v UHT mléce. Přídavek epikatechinu do UHT kravského mléka před jeho tepelným zpracováním významně redukoval tvorbu hlavních Maillardovských sloučenin zodpovědných za tvorbu aroma, jako např. methionalu, furan-2-karbaldehydu, 2-acetyl-1-pyrrolinu a 2-acetyl-2-thiazolinu⁴. V další práci byl sledován vliv vybraných fenolových látek na vznik 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu a na změnu barevné intenzity a antioxidační kapacity v reakčním modelovém systému karamelizace fruktosy. Různé fenolové látky účinkují v těchto procesech s rozdílnými dopady⁵.

Chemickému pozadí účinků fenolových látek na Maillardovu reakci se věnuje jen málo studií. Kromě schopnosti fenolových látek vychytávat reaktivní radikály vznikající v Maillardově reakci, jsou známy⁶ popisy vzniku fenolo-maillardovského aduktu 6-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-5-(hydroxymethyl)-8-oxabicyklo[3.2.1]-okt-3-en-2-onu, který vzniká pericyklickou reakcí z dekarboxylované ferulové kyseliny (vinylguajakolu) a zwitteriontu oxopyrylia (ten vzniká z 3-deoxy-2-hexosulose). Popsány jsou rovněž adiční reakce (-)–epigallokatechin gallátu, floridinu, genisteinu aj. s methylglyoxalem, klíčovým fragmentárním meziproduktem Maillardovy reakce.

Vliv fenolových látek na vývoj redoxního potenciálu a elektrochemicky aktivních látek v Maillardovských systémech dosud ovšem popsán nebyl. My jsme ve své práci zvolili jak sledování galvanického potenciálu reakčních směsí cukr-aminokyselina, tak amperometrickou detekci ($E_a = 0,8 \text{ V}$) vzniklých redukcí látek po jejich předchozí separaci metodou HPLC. Rozsah a charakter nárůstu negativního potenciálu byl testován pro různé sacharidy, teplotu a pH reakce, a především přítomnost vybraných fenolových látek.

Experimentální podmínky

Měřené reakční směsi:

- *Primární:* 0,2M cukr (glukosa, manna, fruktosa, rhamnosa, ribosa, xyloza nebo arabinosa) + 0,067M β -alanin; + 1mM kávová kyselina, chlorogenová kyselina, rosmarinová kyselina, epikatechin nebo kvercetin.
- *Prostředí:* Bis-Tris (pH 6,86) nebo voda; zahříváno při 100 °C (reflux) nebo 60-100 °C; doba reakce 0-24 hod.

Měřené vlastnosti:

- změny redoxního potenciálu ($\Delta E = E_f - E_i = \Delta ORP$; jako ΔrH – změna relativního vodíkového skóre)
z *Nernst-Clarkovy rovnice*: $rH = (E[\text{mV}] + 200)/30 + 2 \cdot \text{pH}$
- změny elektrochemické aktivity separovaných látek (jako RC, redukční kapacita; HPLC-ECD, $E_a = +0,8 \text{ V}$)
- změny pH, změny UV-Vis absorbance.

Výsledky a diskuse

Maillardova reakce v modelových systémech byla studována v oblasti neutrálního pH. β -Alanin byl zvolen kvůli minimalizaci vedlejších reakcí jako je Streckerova degradace. Tlumicí roztok s organickým terciárním aminem vylučuje možnou interakci běžně používaných polyvalentních anorganických iontů, jako jsou fosfáty, se sacharidy. Reakce probíhající při teplotě refluxu po dobu několika hodin zaručují dostatečnou progresi Maillardovy reakce, která se u většiny systémů projevila postupným zbarvením reakční směsi. Atmosférický kyslík rozvoj reakce včetně změny redoxního potenciálu neovlivňuje, jak bylo zjištěno v paralelním experimentu s inertní atmosférou. Podmínky měření redoxního potenciálu byly standardizovány tak, že po temperaci vzorku (20 °C) byl po 1min ponoření elektrody odečten potenciál a přepočten na standardní

vodíkovou elektrodu. Vliv pH byl kompenzován použitím Nernst-Clarkovy rovnice a vyjádřením výsledku ve formě rH. Výsledky byly vyjádřeny jako změny ORP, tj. ΔORP (ΔrH).

V průběhu Maillardovy reakce dochází k výraznému poklesu redoxního potenciálu. Během 1 hod reakce se redoxní potenciál v systému s ribosou snížil o 180 mV. Pentosy dosahují obecně vyššího poklesu redoxního potenciálu než hexosy (kolem 90 mV), ale je to dáno tím, že jsou 2-3x reaktivnější (rychleji transformovatelné) než hexosy. Samotné cukry (bez aminokyseliny) reagují za identických podmínek 4-5x pomaleji. Výsledky vcelku potvrzují závěry publikované Rizzim¹.

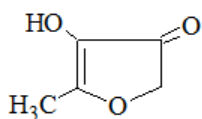
Rychlost reakce je určována také teplotou. Při 1 hod zahřívání nedochází ke změně redoxního potenciálu glukosy s β -alaninem ještě při 70 °C, ale při 80°C již ano. Teplotní závislost souvisí zřejmě i s aktivací energií vzniku nebo poměrem rychlosti vzniku a rozpadu Amadoriho produktů a 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(*H*)-pyran-4-onu (DDMP).

Časový průběh reakce představuje stoupající křivku s komplikovaným průběhem, který odráží účast řady vznikajících a zanikajících látek na poklesu redoxního potenciálu. V glukosovém reakčním systému se od 2. hod začínají tvořit barevné produkty, DDMP vzniká až okolo 4. hod. V ribosovém systému vzniká analog DDMP, norfuraneol, již před 1. hod zahřívání při 100 °C.

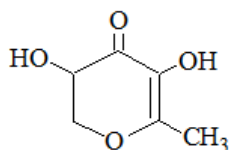
Zmíněné látky s aktivní methylenovou skupinou, norfuraneol a DDMP, jsou relativně stabilní látky, které lze s výhodou stanovit amperometrickou metodou v systému HPLC s elektrochemickým detektorem. Podíl těchto látek na elektrochemické (redukční) kapacitě v některých měřených systémech dosahoval i 40 %. Pokles redoxního potenciálu stanoveného potenciometricky redoxní elektrodou dobře koreluje s nárůstem koncentrace elektrochemicky aktivních látek stanovených amperometricky ($E_a = 0,8 \text{ V}$; $r^2 = 0,91$). Za jistých omezujících podmínek tak může stanovení redoxního potenciálu zastoupit časově a vybavením náročnější metodu HPLC s elektrochemickým detektorem. Zároveň je třeba uvést, že detekovatelný pokles redoxního potenciálu v čase předchází vzniku detekovatelného množství elektrochemicky aktivních reaktantů stanovených amperometricky. To může souviset s předpokladem, že měřením v galvanickém článku detekujeme i nestabilní reduktony, jako jsou glykosulosy nebo acetylformoin, zatímco amperometrie ve formě elektrochemického detektoru ve spojení s chromatografickou separací umožňuje izolaci, detekci a kvantifikaci stabilnějších Amadoriho produktů a aktivních methylenových pyranonů a furanonů.

Přídavek redukujících látek, jako je kávová kyselina, redoxní potenciál reakčních směsí bezprostředně pochopitelně snižuje, tj. zvyšuje jejich redukční schopnost. Jak však bylo zjištěno, některé fenolové látky vstupují do Maillardovy reakce takovým způsobem, že se množství redukujících látek vznikajících transformací cukrů nakonec sníží. Přítomnost zástupců různých skupin fenolových látek (fenolových a hydroxyskořicových kyselin, flavan-3-olů a flavonolů) v reakčních Maillardovských směsích ukázala ve většině případů statisticky významný vliv na snížení indukovaného nárůstu negativního redoxního potenciálu. Např. v 1 hod systémech s ribosou došlo k snížení negativního ΔrH o 14-29 %. Ještě vyšší pokles byl sledován u elektrochemické kapacity, kdy přítomnost kyseliny kávové vedla k poklesu indukovaných elektrochemicky aktivních látek i o více než 50 %.

Výsledky experimentů tak mj. naznačují, že, kromě možných schopností vychytávat reaktivní karbonylové sloučeniny a snižovat tak karbonylový stres, mohou v potravinách přítomné fenolové antioxidanty negativně ovlivnit hladinu antioxidantů vznikajících Maillardovou reakcí během technologického a kulinárního zpracování potravin.



norfuraneol

2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(*H*)-pyran-4-on (DDMP)

Literatura

- [1] Rizzi G. P. 2003. J. Agric. Food Chem. 51: 1728–1731.
- [2] Yaylayan V., Haffenden L., Chu F.L., Wnorowski A., 2005. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1043: 41-54.
- [3] Totlani V. M., Peterson D. G., 2006. J. Agric. Food Chem. 54: 7311-7318.
- [4] Colahan-Soderstrom P.M., Peterson D. G., 2005. J. Agric. Food Chem. 53: 7311-7318.
- [5] Zhang, X., Chen F., Wang M., 2013. Food Chem. 141: 3451-3458.
- [6] Jiang D., Peterson D.G., 2009. J. Agric. Food Chem. 57: 9932-9943.

R 31**AKRYLAMID A ESTERY 3-MCPD V CEREÁLNÍCH PRODUKTECH**

Bělková B., Čápková H., Bazalková K., Hradecký J., Hajšlová J.
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

1 Úvod

Pečení je technologický proces probíhající za vyšších teplot (120 - 200°C), při němž vzniká mnoho sensoricky významných látek ovlivňující aroma výrobku. Vedle žádoucích změn může docházet i ke vzniku procesních kontaminantů jako je akrylamid (karcinogen skupiny 2A), 3-monochlorpropan-1,2-diol (3-MCPD) (karcinogen skupiny 2B) nebo například 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu (potencionální karcinogen) [1,2,3].

3-MCPD byl poprvé identifikován jako složka bílkovinných hydrolyzátů [4]. Jeho esterově vázaná forma byla nalezena v řadě potravin v hladinách mnohem vyšších než jeho volná forma. Předpokládá se, že estery 3-MCPD se mohou hydrolyzovat lipázami v trávicím traktu člověka, což vede ke vzniku právě volného 3-MCPD *in vivo* [5]. Estery 3-MCPD vznikají v potravinách z parciálních esterů glycerolu v přítomnosti chloridových iontů. Nejvyšší hladiny vznikají během procesu rafinace (při deodorizačním kroku) v rostlinných tucích a olejích, zvláště v palmovém oleji [6]. Limit pro 3-MCPD estery v potravinách nebyl dosud stanoven. Existuje pouze pro volný 3-MCPD v kyselých bílkovinných hydrolyzátech a v sójových omáčkách (0,02 mg/kg) [7].

Akrylamid vzniká během Maillardovy reakce při teplotách nad 120 °C. Dominantními prekurzory jsou redukující cukry a aminokyselina asparagin [8]. Cereálním produktům je věnována velká pozornost vzhledem k jejich vysoké spotřebě a hlavně relativně vysokému obsahu akrylamidu [9]. Hygienický limit pro akrylamid dosud nebyl stanoven. Existují však tzv. směrné hodnoty akrylamidu, které by neměly být překročeny [10]. Poznatky o možnostech minimalizace akrylamidu v různých typech potravin shrnuje tzv. FoodDrinkEurope Acrylamide Toolbox 2013 zpracovaný organizací FoodDrinkEurope [11].

V rámci této práce se první část zabývala sledováním vzniku akrylamidu a 3-MCPD esterů během tepelného zpracování cereálních sušenek pečené při 180 °C po dobu 14, 16 a 18 minut. Receptury sušenek se lišily ve druhu použité mouky (hladká pšeničná a ječná, celozrnná pšeničná a ječná), v přidavku soli, kypřicího prášku, přidavku komerčního emulgátoru na bázi lecitinu a v přidavku brambor. K pečení byl použit 100% palmový tuk. Druhá část práce se zabývala sledováním fingerprintů pečených sušenek pomocí techniky DART-HRMS, U-HPLC-HRMS a HS-SPME-GC-TOF-HRMS.

2 Experimentální část**2.1. Analytické metody*****Stanovení 3-MCPD esterů***

Tuk byl extrahován z homogenizovaného vzorku a přečištěn přes sloupec silikagelu. Pro kvantifikaci byla použita technika izotopového zředování, kde byl použit 1,2-dipalmitoyl-3-MCPD-*d*₅ jako vnitřní standard. Vzorky byly analyzovány pomocí U-HPLC-Orbitrap MS.

Stanovení akrylamidu

Vzorky byly připraveny pomocí QuEChERS metody. Pro kvantifikaci byla použita technika izotopového zředování. Přečištěný extrakt byl analyzován pomocí HPLC-MS/MS.

Necílová analýza pomocí DART-HRMS a U-HPLC-HRMS

Vzorky byly extrahovány 50 % metanolem, třepány a odstředěny [12]. Pro analýzu pomocí DART-HRMS byly vzorky nanášeny na kovovou mřížku o rozměru {12x8}. Mřížka byla umístěna do posuvného autosampleru nacházejícího se v prostoru mezi výstupem iontového zdroje a vstupem do hmotnostního spektrometru. Stejně extrakty byly použity pro analýzu pomocí U-HPLC-HRMS.

Vzorky byly změřeny v pozitivním a negativním módu ionizace. Data získaná měřením byla statisticky vyhodnocena.

Necílová analýza těkavých látek pomocí HS-SPME-GC-TOF-HRMS

Čerstvě homogenizované vzorky sušenek byly naváženy do 10 ml Head Space vialek a k nim byl ještě přidán nasycený roztok NaCl. Vzorky byly inkubovány a následná sorpce provedena na vláknu DVB/CX/PDMS (divinylbenzen/karboxen/polydimethylsiloxan). Stanovení sensoricky aktivních látek bylo provedeno ve třech opakováních pomocí mikroextrakce na tuhou fázi HS-SPME (Head Space-Solid Phase Microextraction) spojenou GC-TOF-HRMS. Data získaná měřením byla statisticky vyhodnocena.

2.2 Analyzované vzorky

V rámci experimentální části bylo sestaveno 10 receptur pro přípravu sušenek. Některé receptury se lišily druhem použité mouky, ve všech recepturách byl použit 100% palmový tuk, který se běžně pro přípravu komerčních sušenek používá, dále cukr, sůl (NaCl), voda a kypřicí prášek (obsahující difosforečnany a uhličitan sodný). Byly připraveny též vzorky z ječné hladké mouky, pšeničné a ječné celozrnné mouky, v jednom vzorku chyběla sůl, v dalším kypřicí prášek, v jednom byl přidán lecithin jako emulgátor, dvě receptury byly připraveny s přídavkem solamylu a jedna s přídavkem brambor (varný typ B, pozdní, odrůda Dali). V recepturách, kde byla některá složka vynechána, byl její obsah nahrazen moukou.

Pomocí nastavitelného válečku byly připraveny sušenky o stejné tloušťce 2 mm. Sušenky o rozměrech 3,5 cm x 2 cm byly pečené v troubě při teplotě 180 °C po dobu 14, 16 a 18 minut. Po upečení se vzorky nechaly 30 min zchladnout, pak byly homogenizovány a hned naváženy na analýzu těkavých látek. Zbytek vzorků byl uskladněn v mrazáku k dalším analýzám.

3 Výsledky a diskuse

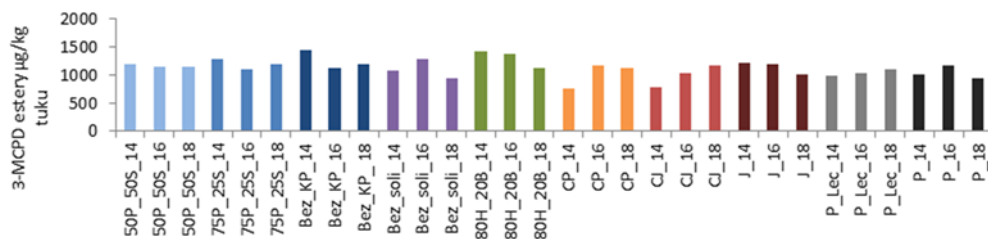
Akrylamid v pečených sušenkách

Ze zjištěných výsledků je patrné, že délka pečení neměla významný vliv na obsah akrylamidu. Nejvýznamnější vliv na jeho obsah mělo složení receptury. Směrná hodnota akrylamidu pro sušenky s výjimkou bramborových je 500 µg/kg. Pod touto hodnotou se pohybovaly všechny vzorky z pšeničné hladké mouky, kromě vzorků z celozrnné a ječné mouky. Přídavkem kypřicího prášku (směs difosforečnany a uhličitan sodný) byl obsah akrylamidu snížen o 22 % až 27 %. Použitím soli, poklesl obsah akrylamidu o 10,5 %, avšak ve většině receptů se sůl v nějakém množství vždy používá. Vyšší přídavek solamylu (nahradil částečně mouku v některých recepturách), způsobil snížení vzniku akrylamidu. Toto zjištění lze přisoudit tomu, že mouka obsahuje jak aminokyseliny, tak cukry, zatímco solamyl je modifikovaný škrob, který je zbaven právě prekurzorů akrylamidu. Přídavkem lecithinu jako emulgátoru v receptuře způsobí nárůst akrylamidu o 35 %. V sušenkách připravených z brambor bylo zjištěno až 9x vyšší obsah akrylamidu než v obyčejných sušenkách z pšeničné hladké mouky. Sušenky obsahovaly od 180 do 2 655 µg/kg akrylamidu, kde nejvyšší obsah byl zpozorován právě v sušenkách připravených z brambor.

3-MCPD estery v pečených sušenkách

Sušenky jakožto cereální výrobky jsou hojně konzumovanou potravní komoditou spotřebiteli. V průmyslu se vyrábí velmi často z palmového tuku. Jakožto nasycená mastná kyselina s vhodnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi je velmi stabilní během tepelného zpracování, tedy nepodléhá tak snadno oxidačním změnám a tím má finální produkt delší trvanlivost. Palmový tuk je primárním zdrojem 3-MCPD esterů, které vznikají během rafinace surového oleje při deodorizačním kroku. Kromě tuku, který se pro přípravu sušenek používá, jsou v pekařství využívány také emulgátory, jako je například sójový lecithin, které zlepšují reologické vlastnosti těsta. Mimo diacylglycerolů obsahuje lecithin také fosfolipidy, které mohou být významným prekurzorem vzniku esterů 3-MCPD. Po přídavku lecithinu do těsta sušenek byl v rámci

realizovaných experiment opravdu upozorován nárůst esterů 3-MCPD s přibývajícím časem pečení. U sušenek připravených z ječné či pšeničné mouky, docházelo také k nárůstu 3-MCPD esterů. V případě celozrnné pšeničné mouky dochází k nárůstu mezi pečením 14 až 18 min až o 57 %, u vzorků obsahujících celozrnnou ječnou mouku je nárůst o 55 %. Je také zajímavé si povšimnout, že u většiny sušenek 3-MCPD estery klesaly s rostoucím časem pečení. To může poukazovat na jejich degradaci (**Grafu 1**). V **Tabulce 1** jsou k jednotlivým recepturám a časům pečení sušenek přidány kódy, které jsou použity v **Grafu 1**. Kód obsahuje zkratku receptury a číslo, které znamená počet minut pečení.



Graf 1.: 3-MCPD estery v sušenkách o různých recepturách

Tabulka 1.: Seznam kódů a jejich vysvětlivek jednotlivých receptur

	14min	16min	18min
50g hladká pšeničná mouka + 50g solamylu	50P_50S_14	50P_50S_16	50P_50S_18
75g hladká pšeničná mouka + 25g solamylu	75P_25S_14	75P_25S_16	75P_25S_18
100g hladká mouka pšeničná bez kypř. prášku	Bez_KP_14	Bez_KP_16	Bez_KP_18
100g hladká mouka pšeničná bez soli	Bez_sol_14	Bez_sol_16	Bez_sol_18
80g hladká mouka pšeničná, 20 g brambor	80H_20B_14	80H_20B_16	80H_20B_18
100g celozrnná mouka pšeničná	CP_14	CP_16	CP_18
100g celozrnná mouka ječná	CJ_14	CJ_16	CJ_18
100g hladká ječná mouka	J_14	J_16	J_18
100g pšeničná mouka + 1g lecithinu	P_Lec_14	P_Lec_16	P_Lec_18
100g hladká pšeničná mouka	P_14	P_16	P_18

Necílová analýza pomocí DART-HRMS, U-HPLC-HRMS a HS-SPME-GC-TOF-HRMS

Data získaná necílovými měřeními byla vyhodnocena pomocí multivariační analýzy a porovnána. Metodou DART-HRMS byla sledována relativní intenzita procesního kontaminantu 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu (m/z 109,028). S rostoucím časem pečení, rostl také obsah tohoto procesního kontaminantu ve všech recepturách.

Dvojnásobná intenzita byla pozorována u vzorků sušenek z hladké pšeničné mouky bez použití kypřícího prášku. Kypřící prášek pravděpodobně výrazně potlačil vznik 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu. Data získaná metodou DART-HRMS v pozitivním módu ionizace se statisticky lépe rozdělily podle receptur. Nejlepšího rozdělení dat získaných metodou LC-HRMS dle receptur bylo dosaženo měření v negativním módu ionizace. Pro rozdělení multivariačními metodami byly často ve výsledcích měření z obou metod významné stejné ionty. Výrazným faktorem pro rozdělení vzorků bylo použití druhu mouky, ječné mouky místo pšeničné nebo celozrnné místo hladké. Čas pečení neměl významný vliv na rozdělení vzorků. Přítomnost lecithinu, solamylu nebo absence sole neměli významný vliv ve statistickém rozdělení receptur.

Alkoholy, aldehydy, ketony, thiazol, pyrrol a jeho deriváty, furfural, také procesní kontaminant furan a jeho deriváty, a procesní kontaminant 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu (produkty Maillardovy reakce, oxidace lipidů a fermentace) byli mezi identifikovanými těkavými sloučeninami, které se podílely na rozdělení vzorků. Bylo detekováno 19 druhů alkylpyrazinů, významné nositele aroma. Na základě profilu těkavých látek byly výrazněji odděleny multivariační analýzou vzorky lišící se použitou moukou a bez přídavku kypřícího prášku, obdobně tomu bylo i při screeningu metodou DART-HRMS. Podobně jako metodou DART-HRMS bylo zjištěno, že obsah 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu roste s délkou pečení.

4 Závěr

Na vznik 3-MCPD esterů měla významný vliv receptura. Přídavkem lecithinu došlo k nárůstu esterů. U většiny sušenek byl pozorován trend poklesu esterů 3-MCPD v závislosti na prodlužující se čas pečení. To může poukazovat na jejich degradaci.

Z výsledků získaných měření vzorků sušenek třemi zmíněnými screeningovými metodami DART-HRMS, U-HPLC-HRMS a HS-SPME-GC-TOF-HRMS vyplývá, že významnější parametr pro zjištění rozdílu mezi vzorky sušenek různých receptur pečených různě dlouhou dobu je významnější složení receptury než délka pečení. Z hlediska složení receptury jsou významné použité mouky a kypřící prášek. S rostoucí délkou pečení vzniká více 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehydu, což bylo zjištěno metodou DART-HRMS i metodou analýzy těkavých látek. Více než teplota pečení měla vliv na vznik akrylamidu receptura.

5 Literatura

- [1] IARC (1994). Acrylamide. In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some industrial chemicals, Volume 60. (pp 389-433). Geneva, Switzerland: WHO.
- [2] <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>
- [3] European Food Safety Authority (EFSA) (2011). Scientific opinion on the re-evaluation of caramel colours (E 150 a, b, c, d) as food additives. EFSA Journal, 9(3) (103 pp., (available at: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2004.pdf>)
- [4] Velisek J., Davidek J., Hajslova J., Kubelka V., Janicek G., Mankova G. (1978). Z Lebensm Unters Forsch 167:241–244.
- [5] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (2002). Evaluation of certain food additives and contaminants: fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 5-14 June 2001. WHO technical report series; 909. Geneva: WHO.
- [6] ILSI EUROPE REPORT SERIES: 3-MCPD esters in food products, Summary report of a WorkShop held in February 2009, in Brussel, Belgium.
- [7] EC (2001) Regulation No. 466/2001, Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Communities L77/1, 16 March, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- [8] Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. Tornqvist, M. (2002). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4998-5006.
- [9] European Food Safety Authority (2010). Results on acrylamide levels in food from monitoring year, EFSA Journal, 8(5):1599.
- [10] Food Drink Europe Acrylamide 2013, www.fooddrink europe.eu
- [11] Doporučení Evropské komise ze dne 8. 11. 2013 o zkoumání množství akrylamidu v potravinách
- [12] Vaclavik, L., Capuano, E., Gokmen, V., Hajslova, J. (2015). Prediction of acrylamide formation in biscuits based on fingerprint data generated by ambient ionization mass spectrometry employing direct analysis in real time (DART) ion source. *Food Chemistry*, 173, 290–297.

Poděkování:

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

R 32**SNÍŽENÍ OBSAHU CHLORPROPANOLŮ V POTRAVINÁCH**

Doležal M., Ilko V., Matějková K.

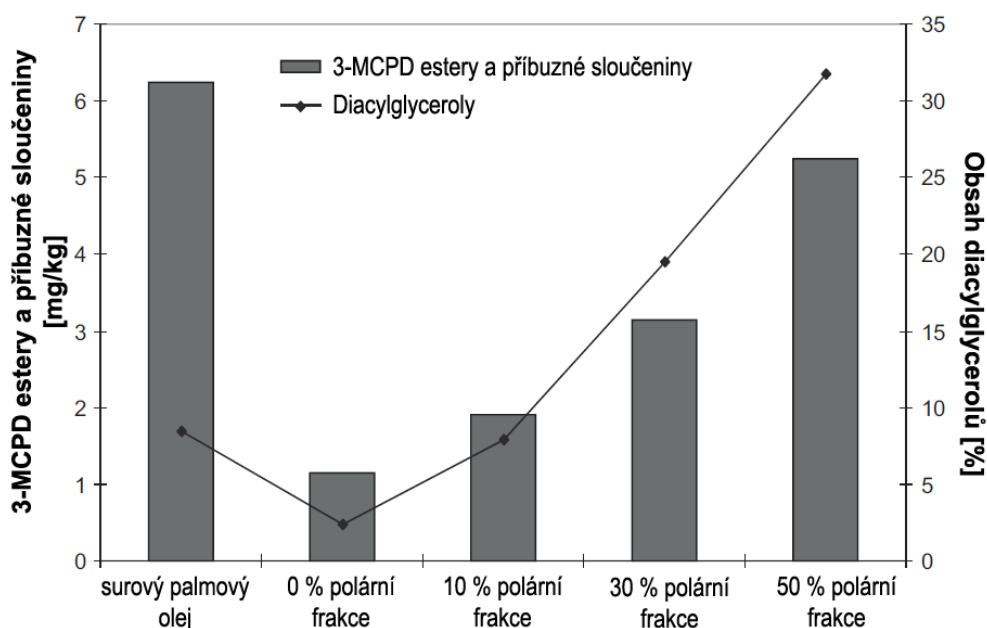
Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

3-MCPD (3-chlorpropan-1,2-diol) a glycidol (2,3-epoxypropan-1-ol) patří ke skupině tzv. procesních kontaminantů, což znamená, že mohou vznikat v potravinách při jejich technologickém zpracování. Tyto látky byly prokázány jako potenciálně karcinogenní a genotoxické. Vyskytují se v různých potravinářských komoditách, buď volné nebo esterově vázané [1,2]. Vysoké obsahy esterů 3-MCPD byly zjištěny v rafinovaných palmových olejích [1], zatímco panenské oleje tyto kontaminanty neobsahovaly. Bylo prokázáno, že deodorace je jedním z technologických procesů, který může vést ke vzniku esterů 3-MCPD a glycidolu [3,4]. Vzhledem k širokému použití rostlinných olejů v potravinářském průmyslu přecházejí tyto látky jako součást receptury do potravinářských výrobků.

Opatření týkající se redukování 3-MCPD a jeho esterů v potravinářských surovinách a potravinách souvisí s redukováním i látek příbuzných, jako je glycidol a jeho estery. Studium podmínek degradace esterů chlorpropanolů poskytlo cenné informace pro možná snížení rizik výskytu těchto látek v potravinách. Toho může být dosaženo třemi nezávislými cestami:

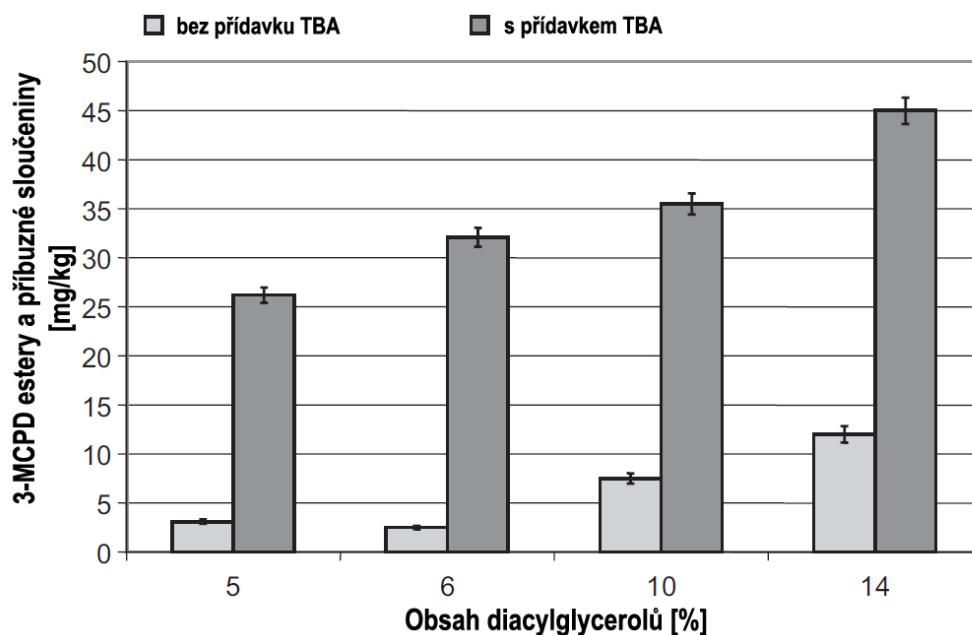
1. nižší tvorbou esterů při zpracování potravin např. výběrem surovin, které mají přirozeně nízký obsah prekurzorů (především chloridů a parciálních esterů glycerolu) nebo změnou fyzikálně-chemických parametrů procesu (tj. teploty, doby zpracování, aktivity vody, pH, přítomnosti dalších reaktantů)
2. degradací již vzniklých esterů 3-MCPD pomocí fyzikálních (adsorpcí na povrchu pevných látek) nebo chemických metod; v modelových systémech byl nejaktivnější látkou rozkladu 3-MCPD hydrogenuhlíčan sodný následovaný uhličitánem sodným, cysteinem a glutathionem (tyto látky se přirozeně vyskytují v potravinách nebo mohou být přidány do potravin běžně jako aditiva, např. jako zlepšující přísady v pekárenských výrobcích)
3. vhodným výběrem surovin do vlastních výrobků u následných zpracovatelů/výrobců potravin; nejdůležitější v tomto směru je výběr tukové složky, zejména její původ (např. palmový, sójový, řepkový olej) a typ (např. panenský, rafinovaný).

Monoacylglyceroly (MAG) a diacylglyceroly (DAG) se přirozeně vyskytují v malém množství v surových živočišných i rostlinných tucích a olejích. Jejich koncentrace se však může zvýšit v průběhu zpracování v důsledku částečné hydrolýzy TAG buď působením enzymů nebo tepelným působením. Většina tuků a olejů získaných z méně kvalitních zdrojů, které mají abnormálně vysoký obsah volných mastných kyselin, obsahují odpovídající zvýšené koncentrace DAG i MAG. Teplo, tlak a enzymová aktivita přispívá k urychlení hydrolýzy mastných kyselin, k níž dochází zvláště u oliv [5], plodů palmy olejné nebo světlicových semen [6]. Poklesu tvorby MCPD a jeho esterů proto může být dosaženo snížením koncentrace MAG a DAG v surovinách nebo minimalizací jejich produkce při chemické nebo enzymatické hydrolýze TAG v jakémkoli technologickém procesu. Například snížení DAG v surovině před rafinací by mohlo být dosaženo pěstováním nových druhů olejnin s nižší lipasovou aktivitou nebo enzymovou esterifikací DAG na TAG. Jelikož triolein odolává deodorizační teplotě je potřeba se zaměřit především na snížení obsahu mono- a diesterů v olejích [7]. Freudenstein *et al.*, [8] uvádí, že s rostoucím obsahem polární frakce v olejích rostl obsah 3-MCPD a příbuzných sloučenin (Obr. 1). To je způsobeno především díky DAG, které tvoří 60-75 % polární frakce.

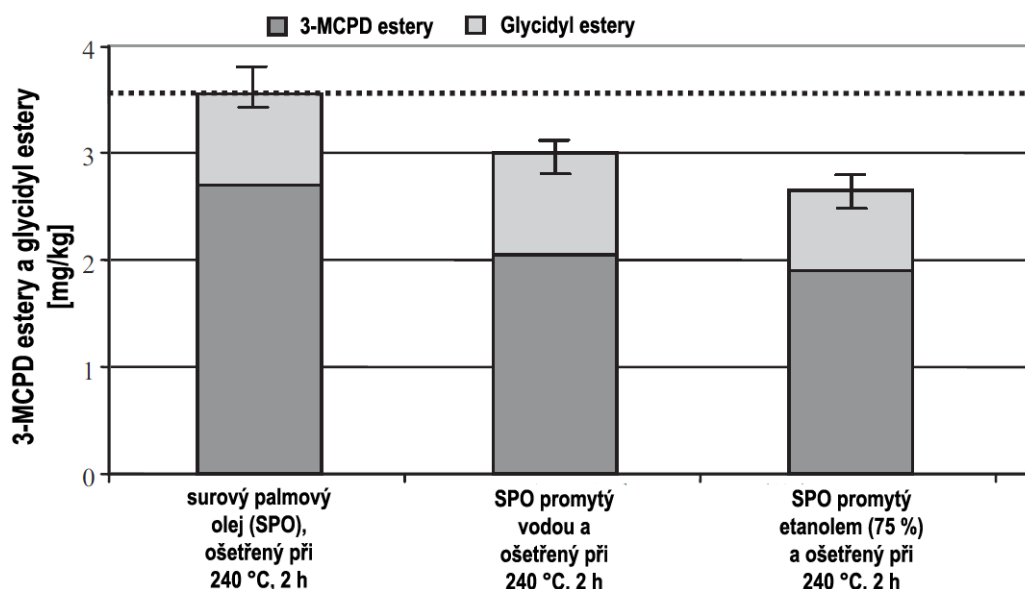


Obr. 1 Závislost obsahu polárních sloučenin na tvorbu 3-MCPD esterů a příbuzných sloučenin [8]

Dalším významným prekurzorem jsou chloridové ionty. Jejich přirozený obsah se v olejích a tucích pohybuje v hladině jednotek $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a je dostatečný k vytvoření MCPD a jeho esterů, např. během procesu rafinace. Promývání surových olejů před zpracováním by mohlo snížit obsah chloridů a následný vznik MCPD esterů [9]. V různých palmových olejích bylo stanoveno 1-6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ chloridů. Přidavek 0,1 % TBAC rozpuštěného v panenském řepkovém oleji vedl k silnému nárůstu obsahu esterů 3-MCPD (Obr. 2). Promývání surového oleje před zpracováním by mohlo snížit obsah chloridů a tím i tvorbu esterů 3-MCPD. Obrázek 3 znázorňuje vliv promývání surového palmového oleje vodou a etanolem (75 %) před krokem deodorace na tvorbu esterů 3-MCPD a glycidyl esterů [10].



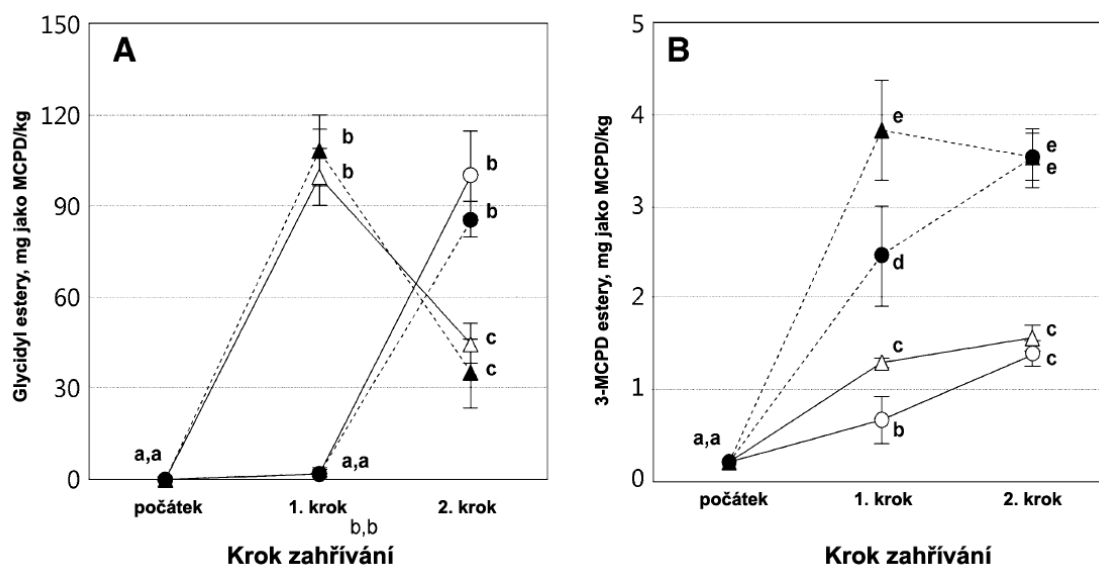
Obr. 2 Vliv chloridů na tvorbu esterů 3-MCPD a příbuzných sloučenin po přidavku 0,1 % tetra-n-butylamoniumchloridu (TBA) v panenském řepkovém oleji [10]



Obr. 3 Vliv promývání na tvorbu esterů 3-MCPD a příbuzných sloučenin [10]

Kromě přirozeného obsahu chloridů v surovinách mohou být významným zdrojem chloridových iontů i chemické látky a materiály používané při rafinaci olejů (např. voda, kyseliny, základní roztoky, pomocné prostředky a bělicí hlinky). Proto je důležité kontrolovat jejich použití [11].

Nadějný způsob, jak snížit tvorbu MCPD/glycidyl esterů při deodorizaci olejů může být regulace teploty, protože tento parametr má velmi silný vliv na formování esterů, zatímco dopad doby trvání procesu se zdá být méně významný [3]. Shimizu *et al.* [12] uvádí, že by snížení obsahu GE mohlo být dosaženo kombinací vyšší teploty po kratší dobu a nižší teploty po delší dobu zahřívání. **Obrázek 4** ukazuje, že při nižší teplotě byl redukován obsah GE vzniklých při vyšší teplotě, což znamená, že nejsou příliš stabilní. Použití nízké teploty může být způsob, jak snížit obsah GE v olejích ošetřených vysokou teplotou. Oproti GE bylo množství 3-MCPD esterů shodné bez ohledu na pořadí použitých teplot, takže pro ně tuto strategii nelze využít.



Obr. 4 Změny koncentrace GE (A) a 3-MCPD esterů (B) při 2 krokovém zahřátí, 180 °C, 4 h v prvním kroku a 240 °C, 1 h v druhém kroku (kruh), reverzní použití teplot (trojúhelník), přídavek 10 mg·kg⁻¹ chloridů (prázdný symbol), 50 mg·kg⁻¹ (plný symbol) [12]

Množství vznikajících MCPD a MCPD esterů může být ovlivněno i jinými látkami, které jsou schopny snížit jejich úroveň nebo zabránit jejich vzniku. V modelových reakcích byl sledován účinek látek, které jsou v potravinářských surovinách přirozeně přítomné nebo přidávané do potravin jako látky aditivní. Nejaktivnější v rozkladu 3-MCPD byl hydrogenuhličitan sodný, následovaný uhličitanem sodným, cysteinem a glutathionem [13]. Přidání glutathionu snížilo množství vznikajícího 3-MCPD přibližně na 80 %, cysteinu na 42 %, uhličitanu sodného na 14 % a hydrogenuhličitanu sodného až na 8 % ve srovnání s modelem, který taková aditiva neobsahoval. Freudenstein [8] uvádí, že přídavek uhličitanu vápenatého měl za následek snížení obsahu glycidyl esterů téměř úplně, 3-MCPD esterů o 50 %, zatímco přídavek hydrogenuhličitanu sodného způsobil téměř úplnou degradaci obou esterů. Ve studiích, které byly zaměřeny na vliv reakčních podmínek v modelových systémech, bylo zjištěno, že snížení obsahu vody v reakční směsi vede k poklesu 3-MCPD vzhledem k nižší tvorbě parciálních esterů glycerolu [14-15].

Závěr

Obecná strategie redukce esterů 3-MCPD nebyla dosud plně objevena a nemusí být vhodná pro všechny potraviny. Je nutné vždy zvažovat, zda postupy ke snížení rizika 3-MCPD a jeho esterů nemohou zvýšit riziko jiných procesních kontaminantů, jako např. furanu nebo akrylamidu (Konings *et al.*, 2007).

Reference

- [1] Zelinková Z., Svejková B., Velišek J. and Doležal M.: *Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils*. Food Addit. Contam., **23**, 1290-1298 (2006)
- [2] Svejková B., Novotný O., Divinová V., Réblová Z., Doležal M., Velišek J.: *Esters of 3-chloropropane-1,2-diol in foodstuffs*. Czech J. Food Sci., **22**, 190-196 (2004)
- [3] Franke K., Striowski U., Fleck G., Pudiel F.: Influence of chemici refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil, Food science and Technology, **42**, 1751–1754 (2009)
- [4] Weisshaar R.: Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure estimates, Eur. J. Lipid Sci. Technol., **113**, 304–308 (2011)
- [5] Barrett D. M., Somogyi L., Ramaswamy H.: Processing Fruits: Science and Technology, 2nd Edn. CRC Press, Boca Raton, Florida (2005)
- [6] Hamrouni I., Touati S., Dhifi W., et al.: Glycerolipid evolution during safflower seed formation and ripening. J. Food Lipids, **11**, 297–311 (2004)
- [7] Shimizu M., Vosmann K., Matthäus B.: Generation of 3-monochloro-1,2-propanediol and related materials from tri-, di-, and monoolein at deodorization temperature. Eur. J. Lipid Sci. Technol. **114**: 1268–1273 (2012)
- [8] Freudenstein A., Weking J., Matthäus B.: Influence of precursors on the formation of 3-MCPD and glycidyl esters in a model oil under simulated deodorization conditions. Eur. J. Lipid Sci. Technol. **115**, 286–294 (2013)
- [9] Matthäus B.: Potential ways of reduction of 3-MCPD esters in vegetable oils/data on mitigation. ILSI Workshop on 3-MCPD esters, Brussels, Belgium, February 5–6., Available at: <http://www.ilsil.org/Europe/Documents/E2009MCPD-11.pdf> (2009)
- [10] Matthäus B., Pudiel F., Fehling P., Vosmann K., Freudenstein A. (2011): Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in vegetable oils, Eur. J. Lipid Sci. Technol. **113**, 380–386 (2011)
- [11] Yalayan V. A. (2009): Molecular mechanism of 3-MCPD ester formation: facts and hypothesis. ILSI Workshop on 3-MCPD esters, Brussels, Belgium, February 5–6, 2009
- [12] Shimizu M., Weitkamp P., Vosmann K., Matthäus B.: Temperature Dependency When Generating Glycidyl and 3-MCPD Esters from Diolein. J Am Oil Chem Soc, **90**, 1449-1454 (2013)
- [13] Velišek J., Calta P., Crews C., Hasnip S., Doležal M.: 3-Chloropropane-1,2-diol in models simulating processed foods: precursors and agents causing its decomposition. Czech. J. Food Sci., **21**: 153–161 (2003)
- [14] Calta P., Velišek J., Doležal M., Hasnip S., Crews C., et al.: Formation of 3-chloropropane-1,2-diol in systems simulating processed foods. Eur. Food Res. Technol., **218**, 501–506 (2004)
- [15] Doležal M., Calta P., Velišek J.: Formation and decomposition of 3-chloropropane-1,2-diol in model systems. Czech J. Food Sci., **22**, 263–266 (2004)

R 33**DEGRADACE ESTERŮ 3-CHLORPROPAN-1,2-DIOLU A GLYCIDOLU**

Matějková K., Ilko V., Doležal M.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Úvod

3-Chlorpropan-1,2-diol (3-MCPD), glycidol (2,3-epoxypropan-1-ol) a jejich estery s mastnými kyselinami patří mezi procesní kontaminanty potravin. Tyto látky byly klasifikovány jako potenciálně karcinogenní a genotoxické. Množství esterů 3-MCPD (mono- a diesterů) s mastnými kyselinami je ve většině případů vyšší než množství volného 3-MCPD, což souvisí s obsahem glycerolu v potravinách, který je zpravidla velmi nízký. Zvláště vysoké koncentrace esterů 3-MCPD a glycidolu obsahují rafinované rostlinné oleje (zejména olej palmový), ve kterých vznikají během rafinace [1,2,3]. Vzhledem k širokému použití rostlinných olejů v potravinářském průmyslu přecházejí tyto látky jako součást receptury do finálních výrobků.

Modelovými pokusy bylo prokázáno, že zdrojem chloru v potravinách není jako v případě bílkovinných hydrolyzátů kyselina chlorovodíková, ale chloridové ionty přirozeně přítomné či přidané (chlorid sodný). Přímými prekursory jsou především diacylglyceroly (DAG) [4], dále monoacylglyceroly (MAG), případně glycerol. Primárními produkty halogenace jsou zpravidla estery chlorpropanolů, které následnou hydrolýzou mohou též poskytovat chlorpropanoly. V modelových systémech simulujících zpracované potraviny bylo zjištěno, že při absenci vody probíhá degradace 1,2-dipalmitoyl-3-MCPD kinetikou prvního řádu a že rychlost rozkladu se rychle zvyšuje s nárůstem teploty [5].

Prezentovaná práce se zabývá kinetikou rozkladu 3-MCPD dipalmitátu (PP-3-MCPD) a glycidyl palmitátu (P-glycidol). Jako zástupce mastných kyselin ve výchozích sloučeninách byla vybrána palmitová kyselina, nejen z důvodu jejího častého výskytu v olejích a potažmo potravinách, ale i s ohledem na její oxidační stabilitu. Degradace v modelových systémech probíhala při konstantních teplotách v rozsahu 80 až 230 °C po dobu 3 h. Pro realizaci výše navrženého modelu byla zavedena analytická metoda GC/MS, která umožňuje stanovení výchozích látek i reakčních produktů současně. Pro kvantifikaci byla jako vnitřní standardy k dispozici deuterovaná analoga výše zmiňovaných analytů. Výsledky projektu ve formě kinetických dat získaných z modelových systémů by měly přispět k potvrzení předpokládaných mechanismů degradace esterů 3-MCPD a glycidolu a k predikci změn v potravinách, především pak v rostlinných olejích.

Materiál a metody

Pro modelové pokusy byly použity tyto chemikálie: 1,2-dipalmitát 3-MCPD (VŠCHT Praha), 1,2-dipalmitát 3-MCPD-*d*₅ (VŠCHT Praha), 1-palmitát 3-MCPD-*d*₅ (VŠCHT Praha), glycidyl palmitát (VŠCHT Praha), glycidyl-*d*₅ palmitát (VŠCHT Praha), tetrahydrofuran p.a. (99,5 %), (Merck, D), silikagel 60 (0,063-0,200 mm) (Merck, D), tetrabutylammonium chlorid (Sigma-Aldrich, USA).

Experimentální část spočívala v analýze připravených modelových systémů (viz Tabulka 1). Do zatavovací ampule bylo naváženo 178 mg silikagelu (v případě modelů obsahujících chloridy a vodu) nebo 180 mg silikagelu (v případě modelů bez vody a chloridů). Následně byl pipetován 1 ml roztoku PP-3-MCPD/P-glycidolu v THF, obsahující 20 mg zkoumané látky. (Dále 0,5 ml roztoku chloridů). Po důkladném promíchání bylo rozpouštědlo odstraněno jemným proudem dusíku. Následně se ampule dala do sušárny (70 °C, 1 h), aby byly odstraněny veškeré zbytky rozpouštědla. (Po vysušení byl do ampule přidán 1 µl vody). Ampule byla zatavena, umístěna do termostatu a zahřívána na předem nastavenou teplotu po stanovený čas (15, 30, 45, 60, 120, 180 min). Po vychladnutí byla ampule otevřena a její obsah byl převeden do 10 ml srdcové baňky, do

které byl přidán 1 ml směsného standardu ($20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 1,2-dipalmitátu 3-MCPD- d_5 , 1-palmitátu 3-MCPD- d_5 , glycidyl- d_5 palmitátu). Následně byly analyty extrahovány pěti krokovou extrakcí. Po přidání 2 ml THF byla směs promíchána, umístěna na ultrazvuk (10 min) a následně filtrována do zvážené 10 ml srdcové baňky. Nakonec bylo rozpouštědlo odpařeno, odparek byl zvážen a rozpuštěn v 1 ml THF. Roztok rozpuštěné látky byl převeden do vialky a analyzován metodou GC/MS.

Tab. 1. Analyzované modelové směsi

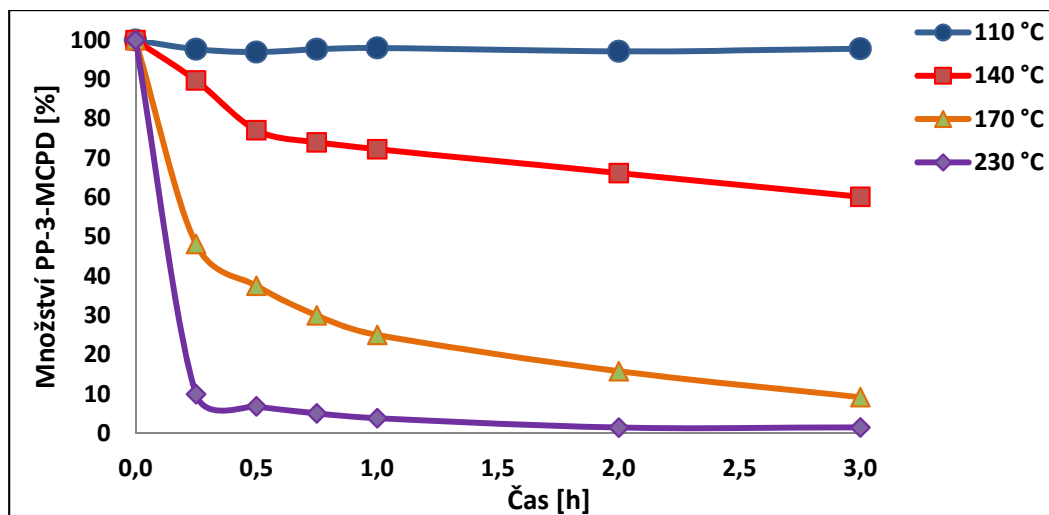
P-glycidol		PP-3-MCPD	
Teplota [°C]	Přidání chloridů a vody	Teplota [°C]	Přidání chloridů a vody
80	ne	110	ano
110	ne	110	
110	ano	140	
140	ne	170	
170	ano	230	

Pro kvantitativní analýzy byl použit plynový chromatograf Agilent 7820A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) s kvadrupolovým hmotnostním detektorem Agilent 5975 (Network Mass Selective Detector) a kapilární kolonou DB-1HT (Agilent, J&W GC columns, Agilent Technologies, USA) o rozměrech $15 \text{ m} \times 250 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$. Nastřikován byl 1 μl . Hmotnostní detektor pracoval v SIM (single-ion monitoring) módu se sběrem iontů o m/z 283, 288, 348, 353 a od 15. minuty 331 a 336. Počáteční teplota pece byla 140°C a poté byla zvyšována rychlostí $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ až na teplotu 300°C . Od teploty 300°C do 340°C se zvyšovala rychlostí $40^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, kde byla držena po dobu 15 min. Teplota injektoru byla 280°C . Průtok nosného plynu helia byl $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

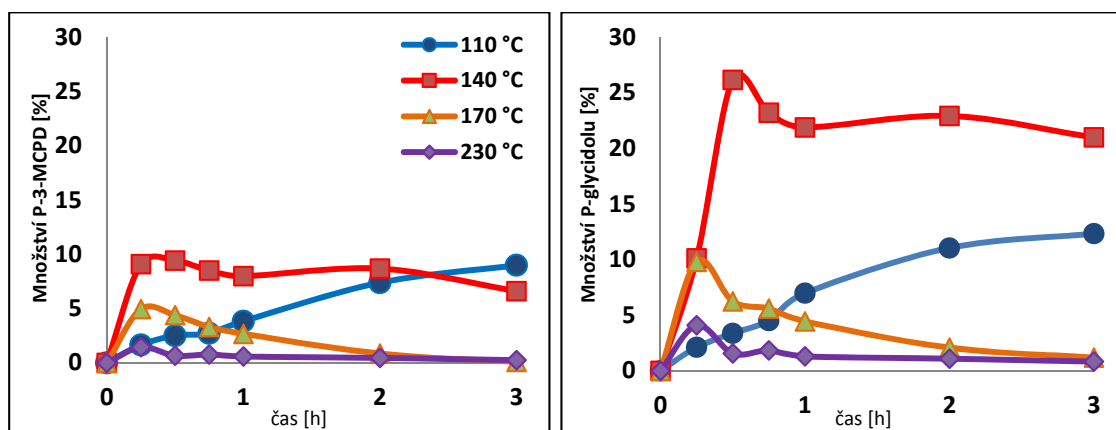
Výsledky a diskuze

Práce se zabývá kinetikou rozkladu P-glycidolu a PP-3-MCPD v modelových systémech simulujících zpracované potraviny. Reakce probíhaly při zvolené konstantní teplotě ($80\text{--}230^\circ\text{C}$) po dobu 15–180 min. Dále byl zkoumán vliv přídavku chloridů ve formě tetrabutylammonium chloridu (TBAC) a vody na rychlost degradace výchozích látek a vzniku chlorovaných látek.

Degradace dipalmitátu 3-MCPD. Při degradaci PP-3-MCPD byl při čtyřech různých teplotách kromě rychlosti úbytku výchozí látky (Obrázek 1) sledován také vznik P-3-MCPD a P-glycidolu (Obrázek 2). Všechny analyzované modely obsahovaly přidané chloridy a vodu. Při 110°C byl s rostoucí dobou záněvu pozorován nárůst P-3-MCPD na 9 % hm. a P-glycidolu 12 % hm. vzhledem k výchozímu množství PP-3-MCPD. Při 140°C byl zřetelně zaznamenán pokles koncentrace PP-3-MCPD a po 1 h se množství P-glycidolu ustavilo na 20 % hm., P-3-MCPD cca 7 % hm. Při 170°C byl pozorován rychlý úbytek PP-3-MCPD, přičemž během 15 min se degradovalo přibližně 50 % hm. V tomto čase model obsahoval také přibližně 10 % hm. P-glycidolu a 4 % hm. P-3-MCPD, s rostoucí dobou záněvu již docházelo k degradaci těchto vzniklých látek. Při 230°C docházelo k nejrychlejšímu poklesu PP-3-MCPD, kdy bylo po 15 minutách degrádováno 90 % hm. Opět byl pozorován vznik P-glycidolu a P-3-MCPD, avšak pouze 4 % hm. P-glycidolu a 1,5 % hm. P-3-MCPD.

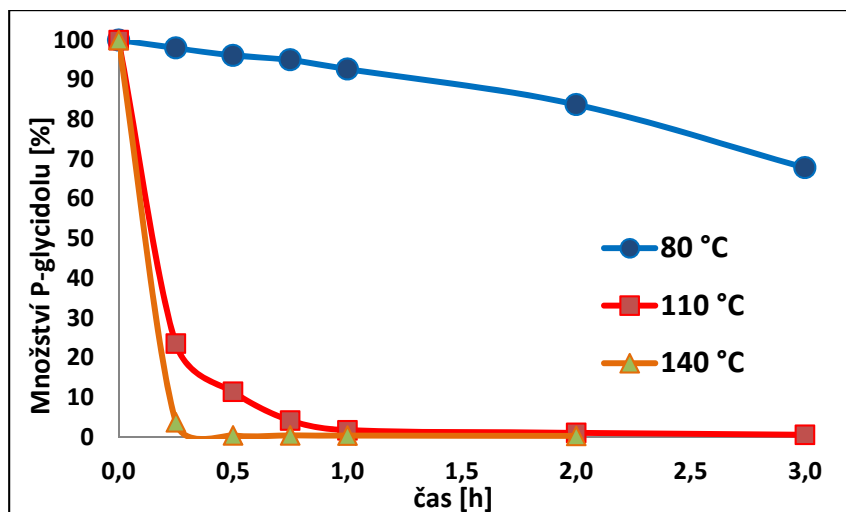


Obr. 1. Degradace PP-3-MCPD v přítomnosti chloridů a vody v závislosti na čase při různé teplotě záhřevu



Obr. 2. Tvorba a rozklad P-3-MCPD a P-glycidolu během degradace PP-3-MCPD v přítomnosti chloridů a vody v závislosti na čase při různé teplotě záhřevu

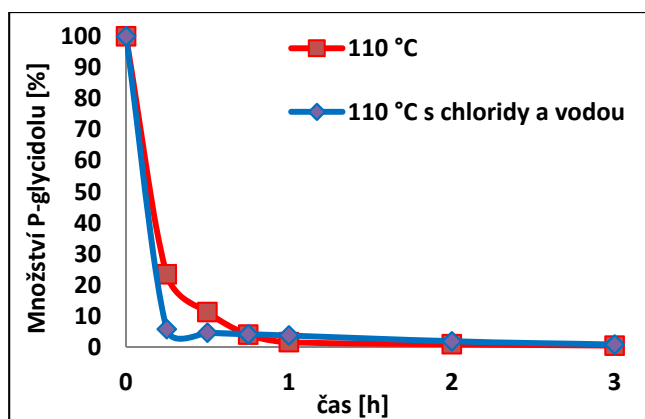
Degradace monopalmitátu glycidolu. Při degradaci P-glycidolu byl při různých teplotách kromě úbytku výchozí látky (Obrázek 3) sledován také vznik PP-3-MCPD a P-3-MCPD (Obrázek 4). Při 80 °C množství P-glycidolu mírně klesalo, zároveň byl patrný mírný nárůst P-3-MCPD (30 min - 2 % hm.). Při 110 °C byl již patrný exponenciální pokles P-glycidolu a opět tvorba P-3-MCPD, avšak v menším množství než při 80 °C. To znamená, že vzniklý P-3-MCPD velmi rychle degradoval. Při teplotě 140 °C byl pokles velmi rychlý, po 30 min modelová směs obsahovala už jen desetiny % hm. z výchozího množství P-glycidolu.



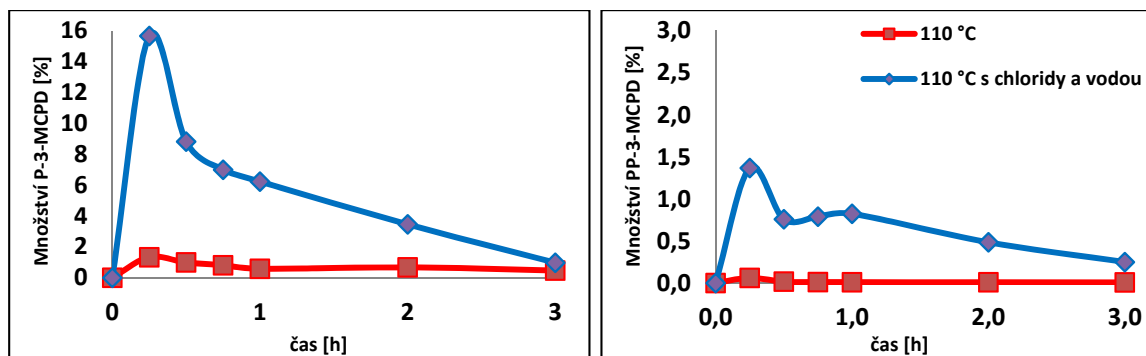
Obr. 3. Degradace P-glycidolu bez přídavku chloridů a vody v závislosti na čase při různé teplotě záhřevu

Pro porovnání rychlosti degradace P-glycidolu byly připraveny dva modely obsahující vodu a chloridy a následně zahřívány na teplotu 110 a 170 °C. Na rozdíl od modelového systému bez vody a chloridů byla rychlost degradace P-glycidolu při 110 °C v přítomnosti těchto látek 2x rychlejší (Obrázek 4). Navíc byl pozorován nárůst P-3-MCPD až na cca 16 % hm. po 15 min (Obrázek 5). Tyto výsledky ukazují, že v přítomnosti chloridových iontů je P-glycidol prekurzorem pro vznik P-3-MCPD, což se shoduje se studií Shimizu *et al.* (2013 a). Dále množství 3-MCPD s rostoucí dobou záhřevu pomalu klesalo. Při teplotě 170 °C byly v modelu po 30 minutách naměřeny pouze desetiný % hm. P-glycidolu, další látky nebyly detekovány.

Relativní směrodatná odchylka (RSD) a limity. Limit detekce stanovených látek byl 0,3 µg/ml a limit stanovitelnosti 0,9 µg/ml. Opakovatelnost vyjádřená jako RSD byla 0,8-3,5 %.



Obr. 4. Porovnání rychlosti degradace P-glycidolu s přídavkem a bez přídavku chloridů a vody při teplotě 110 °C



Obr. 5. Porovnání tvorby a rozkladu PP-3-MCPD a P-3-MCPD během degradace P-glycidolu ve dvou modelových systémech s přidavkem a bez přidavku chloridů a vody v závislosti čase při teplotě 110 °C

Závěr

V modelových systémech byla sledována kinetika degradace procesních kontaminantů P-glycidolu a PP-3-MCPD. Byl sledován vliv fyzikálních parametrů - teploty (80-230 °C) a času (15-180 min.) a prekursorů - chloridů jako TBAC a vody na tvorbu esterů chloropropanolů/glycidolu.

Výsledky ukazují, že PP-3-MCPD byl v přítomnosti vody a chloridů prekurzorem pro vznik P-glycidolu a P-3-MCPD, přičemž při všech teplotách převažovala tvorba P-glycidolu nad P-3-MCPD. Množství glycidolu rostlo se stoupající teplotou do 140 °C. Při vyšších teplotách bylo konečné množství určeno rovnováhou mezi syntézou a degradací. Reaktivita PP-3-MCPD je obecně nižší než reaktivita P-glycidolu. Při absenci chloridových iontů vznikají během degradace P-glycidolu pouze stopová množství esterů chloropropanolů, v přítomnosti TBAC P-glycidol rychle degraduje na estery 3-MCPD, přičemž převažuje tvorba P-3-MCPD nad PP-3-MCPD. Rychlost degradace P-glycidolu je v přítomnosti TBAC dvakrát vyšší než při absenci chloridů ($3,05 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ku $1,48 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$). Při vyšších teplotách docházelo s dobou záhřevu k degradaci vzniklých látek.

Reference

- [1] Zelinková Z., Svejková B., Velíšek J. and Doležal M.: *Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils*. Food Addit. Contam., 23, 1290-1298 (2006)
- [2] Franke K., Strijowski U., Fleck G., Pudol F.: *Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil*. Food science and Technology, 42, 1751–1754 (2009)
- [3] Weisshaar R.: *Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure estimates*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 113, 304–308 (2011)
- [4] Shimizu M., Vosmann K., Matthaus B.: *Generation of 3-monochloro-1,2-propanediol and related materials from tri-, di-, and monoolein at deodorization temperature*. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 114: 1268–1273 (2012)
- [5] Svejková B., Doležal M., Velíšek J.: *Formation and decomposition of 3-chloropropane-1,2-diol esters on models simulating processed foods*. Czech J. Food Sci., 24, 172–179. (2006)

R 34

SLEDOVÁNÍ OBSAHU MASTNÝCH KYSELIN V SEGMENTECH SEMEN A DĚLOHÁCH MIKROSPOROVÝCH EMBRYÍ ŘEPKY OLEJKY OZIMÉ (*BRASSICA NAPUS*)

Endlová L.^{1,2}, Vrbovský V.², Navrátilová Z.¹, Klíma M.³, Rychlá A.²

¹⁾ Ostravská univerzita v Ostravě

²⁾ OSEVA PRO s.r.o., o.z. Výzkumný ústav olejnin Opava

³⁾ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha 6 - Ruzyně

Úvod

Brukev řepka olejka (*Brassica napus* L.) je v současnosti v ČR po pšenici nejvýznamnější polní plodinou. Mezi olejninami zaujímá dominantní postavení a tvoří téměř 85 % z celkové plochy pěstovaných olejnin u nás. Za posledních deset let došlo k navýšení osevní plochy řepky olejky téměř o 68 %. V roce 2014 bylo oseto 389 tis. ha a průměrný výnos dosahoval 3,9 t/ha. V ČR převládá pěstování hlavně ozimé řepky, jarní řepka se pěstuje minimálně a slouží spíš jako náhrada za vyzimovanou řepku ozimou (www.csu.cz).

Cílem produkce je především zisk rostlinného oleje, který u současných odrůd vyniká vysokou kvalitou. Chemické složení řepkového oleje predikuje jeho četné možnosti využití, jak v potravinářství, tak pro technologické účely. Extrahované řepkové šroty, samotné řepkové semeno nebo surový olej, jsou pak také hodnotnou složkou krmiv pro hospodářská zvířata [1 - 2].

Kvalita oleje a na něj vázaná vhodnost pro výsledné využití je dána především skladbou mastných kyselin (MK). Zastoupení jednotlivých MK v řepkovém oleji je do značné míry podmíněno genotypově. Cíleným šlechtitelským procesem je možné poměry MK v semeni významnou měrou ovlivňovat. Konvenční šlechtitelské postupy se vyznačují značnou časovou, finanční a pracovní náročností. Za účelem zefektivnění šlechtitelského procesu vznikla pracovní skupina šlechtitelských a výzkumných pracovišť „Česká řepka“, v jejímž rámci jsou mimo jiné řešeny aktivity s cílem zvýšit efektivitu tvorby nových genotypů řepky se specifickou kvalitou semene. Do šlechtitelského procesu jsou zaváděny moderní biotechnologické a analytické metody. Perspektivním směrem je např. selekce vhodných genotypů na základě obsahu MK ještě v semenném stavu nebo při tvorbě dihaploidních regenerantů (DH). Selekce DH je prováděna v *in vitro* podmínkách, již po několika týdnech od založení mikrosporové kultury, MK jsou stanovovány v dělohách mikrosporových embryí. DH řepky vytvářené technikou mikrosporových kultur umožňují produkci homozygotních linií a výrazně zkracují dobu šlechtitelského procesu ve srovnání s tradičními postupy [3 - 4]. Ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i. (VÚRV) byla optimalizována metoda tvorby DH linií, která spočívá v napěstování donorových rostlin v klimatizovaných kultivačních komorách, odběru mikrospor a jejich kultivaci na živných médiích, zdvojení jejich chromozomové sady pomocí antimitotických látek, zlepšení regenerace celistvých rostlin postupnou subkultivací kotyledonárních embryí na média s různými kombinacemi fytohormonů a odřezávání částí jejich děloh pro účely dalších analýz [5]. Tyto dnes již rutinně využívané postupy produkce DH linií pro účely tvorby genotypů řepky se změněným spektrem MK v oleji jsou kombinovány s analytickými postupy. Ve společnosti OSEVA PRO s.r.o., Výzkumném ústavu olejnin Opava (OSEVA VÚO) byla vyvinuta a validována metoda stanovení obsahu MK ve vzorcích segmentů semen materiálů v různých fázích šlechtění a ve fragmentech děloh mikrosporových embryí řepky olejky ozimé získané odřezáním z embryí během jejich *in vitro* kultivace.

Za účelem zvýšení efektivnosti šlechtitelského procesu byly v roce 2014 - 2015 analyzovány vzorky segmentů semen a fragmenty děloh DH embryí řepky olejky ozimé získané při *in vitro* kultivaci na skladbu MK metodou plynové chromatografie (GC). Na základě výsledků byla posouzena možnost praktického využití minimalizačních postupů stanovení obsahu MK pro ranou selekci požadovaných genotypů.

Materiál a metody

V rámci uvedeného výzkumu bylo v roce 2014 a 2015 analyzováno 115 vzorků segmentů semen a 142 vzorků děloh mikrosporových embryí DH linií řepky olejky ozimé formy.

Segmenty semen řepky olejky

Vývoji metody stanovení obsahu MK v segmentu semene předcházelo testování vhodného postupu odběru tohoto segmentu. Při odběru vzorku pro analýzu GC bylo nutné respektovat anatomicko-morfologickou stavbu řepkového semene z důvodu možnosti ponechání klíčivé schopnosti zbylé části semene pro jeho následné vysetí a dopěstování rostliny. Praktickým zkoušením nejvhodnějšího řezu bylo otestováno osm způsobů vedení řezu. Řez byl veden skalpelem pod binokulární lupou za pomoci laboratorní pinzety. Odběr segmentu semene byl zvolen tak, aby nebyly poškozeny zárodečné orgány semene, především kořínek (radicula). Ten je pro následný vývoj rostliny klíčový. Odběrový řez byl proto veden v místech děloh (kotyledony). Ztráta jedné z děloh, nebo některé z jejich částí, není pro rostlinu fatální. Především v dělohách je uloženo největší množství zásobních látek, a proto je tato část vhodná pro analýzu obsahu MK. Rozdělená semena byla následně podrobena zkoušce klíčivosti na Petriho miskách s filtračním papírem navlhčeným destilovanou vodou. Po třech dnech proběhlo vyhodnocení. Podle stavu klíčenců a jejich poškození bylo stanoveno, který řez je pro následný vývoj rostliny nejméně destruktivní. Segmenty byly vysety také přímo do půdního substrátu. Vhodně vedeným řezem nebylo vzcházení rostlin významně ovlivněno.

Výchozí vzorky semen řepky olejky pocházely z genotypů vzešlých z aktuálního šlechtitelského programu OSEVA VÚO a také z kolekce materiálů Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity (NP). Hmotnost odebraných segmentů semen pro analýzu se pohybovala v rozmezí 1 - 6 mg. Příprava methylesterů MK byla provedena v mikrozkušavkách za použití methanolického roztoku hydroxidu sodného a směsi isooktanu a isopropanolu. Vzniklé lipofilní methylestery MK se extrahovaly do isooktanu. Pro identifikaci a stanovení obsahu methylesterů MK byl použit plynový chromatograf Master GC (DANI Instruments S.p.A.) s plamenově ionizačním detektorem (FID). Separace probíhala na kapilární koloně FAME Wax (30 m x 0,32 mm x 0,25 μ m, Phenomenex). Na kolonu byl dávkován 1 μ l roztoku methylesteru MK naředěný oktanem v módu split 1: 2 - 60 v závislosti na hmotnosti vzorku. Počáteční teplota byla nastavena na 195 °C, poté následoval nárůst teploty o 5 °C/min na teplotu 240 °C s následným nárůstem 10 °C/min na konečných 250 °C. Celková doba analýzy byla 15 min. Injektor byl vyhříván po celou dobu separace na teplotu 240 °C a detektor na 250 °C. Jako mobilní fáze byl použit vodík s průtokem 1,8 ml/min. Identifikace píků byla provedena porovnáním retenčních charakteristik chromatogramů vzorku se standardní směsí FAME 13 Mix, C16 - C24 (Restek), který obsahoval 14 methylesterů MK k dosažení širokého spektra stanovených MK. Obsah MK byl vyjádřen metodou vnitřní normalizace jako procentuální zastoupení jednotlivých kyselin MK.

Dělohy mikrosporových embryí řepky olejky ozimé

Na pracovišti VÚRV byly zakládány mikrosporové kultury, bylo provedeno zdvojení chromozómové sádky v *in vitro* prostředí a regenerace kotyledonárních embryí. Kotyledonární embrya byla následně kultivována 3 týdny na tekutém NLN médiu s kyselinou abscisovou (koncentrace 15 μ M). Poté byly cca $\frac{3}{4}$ délky obou děloh embryí odříznuty skalpelem a zamrazeny při -20 °C v mikrozkušavkách. Ořezaná embrya byla dále kultivována na pevných živných médiích. Odřezané segmenty děloh jako výchozí vzorky pro analýzu MK byly transportovány v zamraženém stavu z VÚRV do laboratoře OSEVA VÚO a sušeny 48 hod./40°C. Hmotnost těchto vzorků se před sušením pohybovala v rozmezí

6-98,2 mg, po 48 hod. sušení pak pouze mezi 2 - 50 mg. Příprava methyesterů MK byla realizována v mikrozkuřavkách. Vysušený vzorek byl rozdrcen pomocí skleněné tyčinky se směsí isopropanolu a isooktanu, po odpaření činidel následoval shodný postup přípravy i GC měření jako v případě segmentů semen.

Výsledky a diskuze

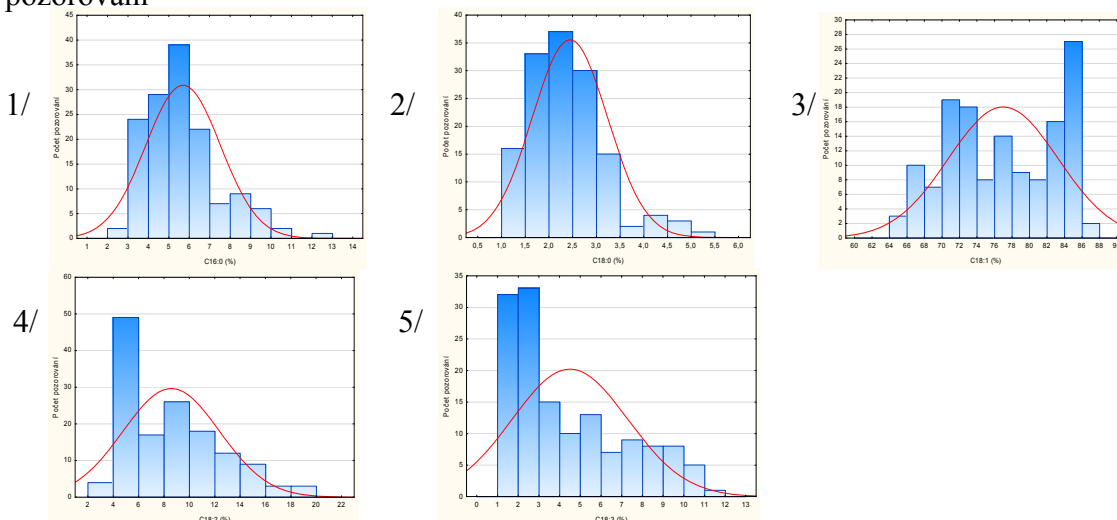
V jednotlivých vzorcích (segmenty semene, dělohy DH embryí řepky olejky ozimé) byl stanoven obsah 10 hlavních MK. Porovnáním retenčních časů vzorků se standardem MK byla prokázána přítomnost následujících MK: palmitová, stearová, olejová, linolová, linolenová, arachová, eikosenová, eikodienová, behenová a eruková. Rozsahy zjištěných koncentrací MK jsou prezentovány v tabulce 1.

Tab. 1: Rozsah koncentrací jednotlivých MK v segmentech semen a dělohách mikrosporových embryí řepky olejky ozimé (%)

Typ vzorku	MK (%)	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C20:2	C22:0	C22:1
Segmenty semen	Min.	0,8	0,5	7,8	4,6	3	0,3	0,8	pod LOD	0,1	pod LOD
	Max.	7,2	1,7	81	8,7	9,9	0,6	5,1	0,8	0,8	56,3
	Průměr	4	1,2	55,2	14,5	10,2	0,4	2,6	0,1	0,3	19,4
Dělohy mikrosp. embryí	Min.	2,9	1,1	64,1	3,6	1,4	0,3	0,5	pod LOD	0,1	pod LOD
	Max.	10,6	15,3	86,4	18,7	11,5	1,6	1,6	0,1	1,1	0,1
	Průměr	5,6	2,4	76,4	8,5	4,5	0,6	0,9	-	0,4	-

V rámci vybraných genotypů byla zaznamenána významná variabilita obsahů MK v segmentech i dělohách mikrosporových embryí řepky olejné. Průběh hodnot a variabilita obsahu 5 nejdůležitějších sledovaných MK řepkového oleje u děloh mikrosporových embryí řepky olejky je uvedena v grafu. 1 - 5.

Graf 1 – 5: Histogramy variability obsahu: 1/ kyseliny palmitové (C16:0), 2/ stearové (C18:0), 3/olejové (C18:1), 4/ linolové (C18:2) a 5/ linolenové (C18:3) v závislosti na počtu pozorování



Olej v semenech současných odrůd řepky olejky zaujímá 46 – 49 % sušiny. Dominantní složkou řepkového oleje je kyselina olejová (u „klasických“ odrůd tvoří 57-68 %, u odrůd typu „High Oleic“ až 80 %), což se také potvrdilo u analyzovaných vzorků. Z hlediska lidské výživy je nežádoucí obsah kyseliny erukové, která způsobuje kardiální lipózu, špatnou resorpci při trávení a retardaci růstu. Odrůdy typu „00“ tuto kyselinu již téměř neobsahují. Právě obsah této MK je limitujícím faktorem při registraci „00“ odrůd, povolená nejvyšší hranice obsahu činí 0,3 %. Naopak její vyšší obsah je požadován v některých odvětvích chemického průmyslu pro výrobu detergentů a maziv. Odrůdy s vyšším podílem kyseliny erukové (50 %), určené výhradně pro nepotravinářské účely, se označují jako „E0“. Analyzované vzorky děloh obsahovaly max. 0,1 % kyseliny erukové, zatímco vzorky segmentů semen obsahovaly max. 56,3 % kyseliny erukové. Vzorky s vysokým obsahem kyseliny erukové pocházely z NP olejin a byly záměrně zařazeny do testované kolekce pro ověření možnosti identifikace vysokoerukových materiálů.

Závěr

Během šlechtitelského procesu jsou průběžně sledovány obsahy všech významných MK v řepkovém oleji, především pak kyseliny erukové jako limitujícího faktoru u „00“ odrůd a dále z hlediska lidské výživy významných MK (olejová, linolová, linolenová). Vedle odrůd se standardní skladbou MK se šlechtění zaměřuje na tvorbu genotypů se specifickou kvalitou, především se zvýšeným obsahem kyseliny olejové (HO – High Oleic). Důraz je také kladen na materiály se zvýšeným obsahem polynasycených MK.

Možnost analýzy obsahu MK v segmentech semen a dělohách mikrosporových embryí pomocí optimalizované GC/FID se jeví z praktického hlediska velice přínosné pro včasnou selekci požadovaných genotypů řepky během šlechtitelského procesu s ohledem na kvalitu vyprodukovaného oleje. Tato výzkumná činnost bude dále pokračovat směrem k ověření korelace mezi obsahy MK zjištěnými minimalizačním postupem a obsahy v oleji získaném ze semen dopěstovaných rostlin a bude tak posouzena perspektiva aplikace minimalizační metody v predikci obsahu MK.

Dedikace

Prezentované výsledky byly získány na základě řešení projektů č.QI111A075 (2011 – 2014) a QJ1510172 (2015 – 2018), spolufinancovaných MZe prostřednictvím NAZV.

Použitá literatura

- [1] Wilmer J.A., Johanes P.F., Helsper P.F.G., Linus H.W.: Effect of growth temperature on erucic acid levels in seeds and microspore-derived embryos of oilseed rape, *Brassica napus* L. J. Plant Physiol. 147 (1996): 486 - 492.
- [2] Przybylski R.: Canola/Rapeseed Oil. In: Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses, Second Edition. 2011 Blackwell Publishing Ltd. (2011): 107 - 136. ISBN 1-84127-331-7.
- [3] Holbrook L.A., Magus J.R., Taylor D.C.: Absinetic acid induction of elongase activity, biosynthesis and accumulation of very long chain monounsaturated fatty acids and oil body proteins in microspore-derived embryos of *Brassica napus* L. Plant Science 84 (1992): 99 - 115.
- [4] Möllers C., Albrecht S.: Screening herbicide on lipid metabolism of storage lipids by in vitro culture of microspore-derived embryos of *Brassica napus*. J. Plant Physiol 144 (1994): 376 – 384.
- [5] Vyvadilová, M., Klíma, M., Kučera, V.: Metodika produkce dihaploidních linií pro šlechtění řepky ozimé. Výzkumný ústav rostlinné výroby, V. V. I. Praha – Ruzyně (2008): 1 - 27.

R 35**POROVNÁNÍ JAKOSTI MASNÝCH VÝROBKŮ ZÍSKANÝCH Z ŘEMESLNÉ MALOVÝROBY A PRŮMYSLOVÉ VÝROBY**

Saláková A., Kameník J.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie masa, Palackého tř. 1/3, 612 42 Brno, salakovaa@vfu.cz

Abstrakt

Masné výrobky jsou velice oblíbenými potravinami pro spotřebitele a často se vedou diskuze o jejich kvalitě. Cílem naší práce bylo porovnání jakosti masných výrobků, které byly odebrány od tří řemeslných malovýrobců, a tří průmyslových zpracovatelů z České republiky. Byly vybrány čtyři typy masných výrobků k monitoringu jakostních parametrů – Špekáčky, Gothajský salám, Šunkový salám a Jemné párky. Výrobky byly odbírány od září 2014 do ledna 2015, od každého výrobku a výrobce byly provedeny tři odběry. Byly provedeny analýzy základních fyzikálně-chemických a senzorických parametrů těchto výrobků. Byly hodnoceny rozdíly mezi jednotlivými výrobci, „stálá“ jakost výrobků a plnění legislativních požadavků podle Vyhlášky č. 326/2001 Sb. v platném znění. Mezi výrobci byly zaznamenány rozdíly v jakostních parametrech, u většiny výrobců byla zjištěna variabilita ve výsledcích u stejných výrobků v průběhu odběrového období.

Klíčová slova: obsah tuku, obsah soli, Jemné párky, Šunkový salám, Gothajský salám, Špekáčky

Úvod

V tržní síti lze v dnešní době nalézt značné množství různých druhů masných výrobků od tuzemských i zahraničních producentů. Přesto stále bodují tradiční výrobky, jejichž kvalita je garantována jasně vymezenými legislativními požadavky.

Vyhláška č. 326/2001 Sb. řadí špekáčky mezi tepelně opracované masné výrobky (Vyhláška, 2001). Navíc definuje (mimo senzorických vlastností) následující kritéria: k výrobě lze použít hovězí a/nebo vepřové a/nebo telecí maso, nepřipouští se přídavek strojově odděleného masa. Produkt musí obsahovat nejméně 40 % masa a maximálně 45 % tuku. Od roku 2010 jsou Špekáčky „zaručenou tradiční specialitou“ (ZTS), zápis je bez výhrady názvu. Z fyzikálně-chemických ukazatelů je požadován obsah čistých svalových bílkovin (ČSB) minimálně 6 %, tuk maximálně 45 %, NaCl max. 2,5%. Podle ČSN 57 7115 „Špekáčky, norma jakosti“ byly pro laboratorní zkoušení vymezeny následující chemické a fyzikální požadavky: obsah vody max. 52 %, tuk max. 42 %, obsah NaCl $2,2 \pm 0,6$ %.

Gothajský salám je tepelně opracovaný masný výrobek a vyhláška č. 326/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů předepisuje pro Gothajský salám pouze použití hovězího a vepřového masa, nepřipouští použití strojně odděleného masa. Výrobek musí být připraven minimálně ze 40 % masa, obsah tuku je povolen na max. 40 % (Vyhláška 326, 2001). Norma ČSN 57 7231 uváděla z chemických a fyzikálních požadavků: obsah vody max. 53 %, tuk max. 42 %, obsah NaCl $2,0 \pm 0,6$ %.

Národní legislativa připouští pro Šunkový salám minimálně 55 % masa, obsah tuku max. 20 % (Vyhláška, 2001). Pro výrobu lze použít jen vepřové a hovězí maso, zakazuje se přídavek strojně odděleného masa. Chemické a fyzikální požadavky limitovaly podle ČSN 57 7243: obsah vody max. 70 %, tuk max. 20 %, obsah NaCl $2,3 \pm 0,6$ %.

Vyhláška č. 326/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů člení Jemné párky do skupiny tepelně opracovaných masných výrobků. Tak jako u jiných obdobných produktů lze k výrobě Jemných párek použít jen vepřové a/nebo hovězí maso. V receptuře se nepřipouští strojně oddělené maso. Výrobek musí obsahovat nejméně 50 % masa a maximálně 35 % tuku. Podle normy ČSN 57 7129 mezi požadavky na Jemné párky byly kromě smyslových parametrů vymezeny i chemické a fyzikální vlastnosti: obsah vody max. 61 %, tuk max. 33 %, obsah NaCl $2,1 \pm 0,6$ %.

Cílem práce bylo hodnocení rozdílů mezi jednotlivými výrobci, „stálá“ jakost výrobků a plnění legislativních požadavků podle Vyhlášky č. 326/2001 Sb. v platném znění.

Materiál a metodika

V období 9/2014 – 1/2015 byly zakoupeny masné výrobky – Špekáčky, Šunkový salám, Gothajský salám a Jemné párky. Výrobky pocházely od různých průmyslových výrobců (1 – 10) a tří (čtyř) řemeslných výrobců (11 – 14), od každého výrobce a výrobku tak byly získány během 5 měsíců 3 produkty (3 odběry).

Obsah tuku byl stanoven na přístroji SOXTEC. Jako extrakční činidlo byl použit diethylether. Pro stanovení obsahu soli byly naváženy 2 g vzorku a přelity horkou vodou. Po třiceti minutách byl přidán 1 ml činidla K_2CrO_4 a titrováno $AgNO_3$ do trvalé změny zbarvení (žlutá – oranžová). Obsah čistých svalových bílkovin (ČSB) byl stanoven jako rozdíl obsahu čistých bílkovin a kolagenu. Obsah kolagenu byl stanoven spektrofotometricky při vlnové délce 550 nm na spektrofotometru GENESYSTM 6 (Thermo Electron Corporation, USA) jako množství 4 – hydroxyprolinu. Obsah hydroxyprolinu byl získán z kalibrační křivky a přepočten na obsah kolagenu. Čisté bílkoviny byly stanoveny po vysrážení nebílkovinných N-látek horkým taninem a následném převodu organického dusíku na anorganický dusík na přístroji KJEHLTEC metodou podle Kjeldahla. Pro přepočet obsahu dusíku na obsah bílkovin byl použit faktor 6,25. Pro stanovení obsahu sušiny byla použita metoda sušení (ČSN ISO 57 6021) při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 24 hodin.

Výsledky a diskuse

V tabulkách č. 1 – 8 jsou uvedeny výsledky stanovení obsahu tuku a soli u jednotlivých masných výrobků v průběhu tří odběrů.

Tabulka č. 1: Špekáčky – obsah soli (%)

	1	2	2A	4	11	12	13
1 ODBĚR	1,99	2,50	2,05	2,16	2,03	2,42	2,25
S. D:	0,02	0,03	0,00	0,02	0,03	0,02	0,04
2 ODBĚR	1,97	2,70	1,91	1,58	1,84	2,33	1,91
S. D:	0,03	0,01	0,03	0,01	0,07	0,01	0,00
3 ODBĚR	2,01	2,58	1,94	1,87	1,88	2,37	2,06
S. D:	0,02	0,02	0,01	0,03	0,09	0,03	0,02

Pozn. 1,2,4 – průmyslová výroba, 2A – průmyslová výroba zaručená tradiční specialita, 11, 12,13 – řemeslná výroba

Tabulka č. 2: Špekáčky – obsah tuku (%)

tuk %	1	2	2A	4	11	12	13
1 ODBĚR	32,93	32,90	39,78	36,09	29,56	34,68	38,30
S. D:	0,18	0,35	0,78	0,97	0,60	0,68	0,46
2 ODBĚR	33,55	32,72	31,70	36,92	28,92	30,67	31,66
S. D:	0,57	0,31	2,01	0,67	0,80	1,55	0,37
3 ODBĚR	39,55	31,17	36,03	35,60	37,75	34,37	30,40
S. D:	1,29	0,90	0,46	0,34	0,84	0,29	3,30

Pozn. 1,2,4 – průmyslová výroba, 2A – průmyslová výroba zaručená tradiční specialita, 11, 12,13 – řemeslná výroba

Obsah tuku špekáčků je výrazně nižší, než udává legislativa (45 %), jednotliví výrobci se v obsahu tuku mírně liší a zaznamenali jsme rozptyl v obsahu tuku v průběhu tří odběrů téměř u všech výrobců. Nejvyšší obsah soli jsme zaznamenali u výrobce 2. Špekáček od výrobce 2A, který byl deklarován, jako ZTS vyhovuje legislativním požadavkům pro tento produkt (obsah ČSB 8,36 –

8,98 %). Téměř všechny výrobky by vyhovovaly i normě ČSN 57 7115 z hlediska obsahu vody (53 – 45 %).

Tabulka č. 3: Gothajský salám – obsah soli (%)

	2	5	6	7	11	12	13	14
1 ODBĚR	2,64	2,21	1,84	2,52	2,03	2,32	2,25	2,09
S. D.	0,01	0,02	0,02	0,03	0,00	0,06	0,01	0,00
2 ODBĚR	2,14	2,00	2,21	2,23	1,90	2,11	1,92	2,12
S. D.	0,03	0,01	0,01	0,04	0,02	0,00	0,05	0,03
3 ODBĚR	2,38	2,44	2,31	2,42	1,84	2,56	2,07	2,09
S. D.	0,02	0,03	0,03	0,00	0,01	0,01	0,00	0,02

Pozn. 2,5,6,7 – průmyslová výroba, 11, 12,13, 14 – řemeslná výroba

Tabulka č. 4: Gothajský salám – obsah tuku (%)

	2	5	6	7	11	12	13	14
1 ODBĚR	22,24	22,79	31,75	25,90	29,68	32,84	30,98	32,57
S. D.	0,16	0,16	0,68	0,09	0,36	1,66	0,35	0,46
2 ODBĚR	23,62	20,97	28,89	31,76	29,95	30,60	31,39	31,49
S. D.	0,05	1,50	1,30	0,06	0,81	0,27	1,71	0,52
3 ODBĚR	21,03	20,69	28,28	34,00	32,34	29,15	30,15	32,75
S. D.	0,33	0,12	0,49	0,10	0,09	0,42	0,70	1,48

Pozn. 2,5,6,7 – průmyslová výroba, 11, 12,13, 14 – řemeslná výroba

Obsah tuku Gothajských salámů je nižší, než udává legislativa (40 %), řemeslní výrobci se v obsahu tuku liší od průmyslových výrobců (2,5). V obsahu soli jsme zaznamenali rozptyl u jednotlivých odběrů, vyšší rozptyl byl zjištěn u průmyslových výrobců. Ne všichni výrobci splňují požadavky dřívější normy ČSN 57 7231 v obsahu vody (63 – 50%) a soli. Obsah ČSB byl u řemeslných výrobců 6,34 – 10,99 %, u průmyslových producentů 5,42 – 7,99 %.

Tabulka č. 5: Šunkový salám – obsah soli (%)

	1	2	3	4	11	12	13
1 ODBĚR	2,26	2,44	2,20	2,46	2,36	2,36	2,75
S. D.	0,05	0,00	0,06	0,00	0,02	0,04	0,09
2 ODBĚR	2,24	2,10	2,48	2,35	2,09	2,03	2,35
S. D.	0,01	0,01	0,00	0,02	0,04	0,04	0,01
3 ODBĚR	2,26	2,26	2,33	2,37	1,96	2,15	2,35
S. D.	0,02	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	0,03

Pozn. 1,2,3,4 – průmyslová výroba, 11, 12,13 – řemeslná výroba

Tabulka č. 6: Šunkový salám – obsah tuku (%)

	1	2	3	4	11	12	13
1 ODBĚR	8,23	6,24	5,60	4,03	2,09	3,38	4,53
S. D.	0,03	0,29	0,35	0,25	0,19	0,04	0,10
2 ODBĚR	9,84	7,05	5,73	3,12	2,79	5,23	4,07
S. D.	0,48	0,01	1,10	0,02	0,34	0,20	0,16
3 ODBĚR	8,01	8,55	6,47	6,19	4,85	4,90	6,55
S. D.	0,10	0,36	0,15	0,34	0,04	0,06	0,18

Pozn. 1,2,3,4 – průmyslová výroba, 11, 12,13 – řemeslná výroba

Obsah tuku Šunkových salámů je výrazně nižší, než udává legislativa (20 %), jednotliví výrobci se v obsahu tuku výrazně liší, vyšší obsah tuku mají průmysloví výrobci (1,2,3). V obsahu soli jsme zjistily rozptýl v průběhu tří odběrů, nejvyrovnanější hodnoty má průmyslový výrobce 1. Žádný z výrobců by nesplnil požadavek na obsah vody podle normy ČSN 57 7243 (73 – 78 %). Někteří řemeslní výrobci by u Šunkového salámu splnili limit u ČSB pro výběrové šunky (13 % ČSB) s obsahem kolem 15 % ČSB.

Tabulka č. 7: Jemné párky – obsah soli (%)

	1	2	9	10	11	12	13
1 ODBĚR	2,36	2,16	2,59	2,60	2,51	2,89	2,66
S. D.	0,06	0,03	0,02	0,04	0,03	0,05	0,03
2 ODBĚR	2,25	2,01	2,39	2,61	1,86	2,90	2,18
S. D.	0,03	0,03	0,06	0,00	0,02	0,02	0,03
3 ODBĚR	2,37	2,35	2,50	2,84	1,85	2,89	2,03
S. D.	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,02	0,02

Pozn. 1,2,9,10 – průmyslová výroba, 11, 12,13 – řemeslná výroba

Tabulka č. 8: Jemné párky – obsah tuku (%)

	1	2	9	10	11	12	13
1 ODBĚR	22,81	15,61	12,35	30,33	14,64	16,13	21,98
S. D.	0,89	0,94	0,66	0,56	0,05	0,07	0,11
2 ODBĚR	23,54	15,50	14,47	26,52	13,95	19,08	21,27
S. D.	0,43	0,35	0,35	0,39	0,05	0,65	1,33
3 ODBĚR	24,11	17,63	14,04	28,19	18,43	21,77	23,63
S. D.	0,09	0,09	0,17	0,68	0,24	0,90	0,64

Pozn. 1,2,9,10 – průmyslová výroba, 11, 12,13 – řemeslná výroba

Obsah tuku Jemných párků je u některých výrobců výrazně nižší, než udává legislativa (35 %). U řemeslných výrobců (11, 13) byl zjištěn vyšší rozptýl v obsahu soli. Dřívější normu ČSN 57 7129 by někteří výrobci nesplnili v obsahu vody (50 – 64 %) a v obsahu soli. Obsah ČSB byl zjištěn v rozmezí 7,34 – 14,44 %, u řemeslných výrobců byl zjištěn v průměry vyšší obsah ČSB než u průmyslových výrobců.

Poděkování

Práce vznikla za podpory institucionálního výzkumu Fakulty veterinární hygieny a ekologie VFU Brno 2014.

Seznam použité literatury

- ČSN 57 7115 „Špekáčky, norma jakosti“. In: Masné výrobky, IV. díl ČSN, THN, soubor platný od 1. 1. 1982. Masný průmysl, GŘ, výrobní útvar, Praha.
- ČSN 57 7129 „Jemné párky, norma jakosti“. In: Masné výrobky, IV. díl ČSN, THN, soubor platný od 1.1.1982. Masný průmysl, GŘ, výrobní útvar, Praha.
- ČSN 57 7231 Gothaiský salám, norma jakosti. In: Masné výrobky, IV. díl ČSN, THN, soubor platný od 1. 1. 1982. Masný průmysl, GŘ, výrobní útvar, Praha.
- ČSN 57 7243 Šunkový salám, norma jakosti. In: Masné výrobky, IV. díl ČSN, THN, soubor platný od 1. 1. 1982. Masný průmysl, GŘ, výrobní útvar, Praha.
- ČSN ISO 57 6021. Metody zkoušení výrobků z masa a sterilovaných pokrmů v konzervách – Stanovení obsahu vody (Referenční metoda). Praha : Český normalizační institut. 1999.
- Vyhláška 326 (2001): Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 326/2001 Sb. In: Sbírka zákonů České republiky, částka 126/2001, strana 7414.
- Žádost o zápis zaručené tradiční speciality dle Nařízení Rady (ES) č. 509/2006 „Špekáčky“ nebo „Špekačky“ č. ES: SK-TSG-0007-0055-21.05.2007. Úřední věstník EU C 94/18, 14. 4. 2010.

R 36**HALOGENOVANÉ KONTAMINANTY A JEJICH DERIVÁTY V MOŘSKÝCH PLODECH DOSTUPNÝCH NA ČESKÉM TRHU**

Lanková D., Vincíková A., Pulkrabová J., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

1. Úvod

Per- a polyfluoralkylované sloučeniny (PFAS) a bromované retardéry hoření (BFR), reprezentované především tetrabrombisfenolem A (TBBPA) a isomery hexabromcyklododekanu (HBCD), patří mezi všudypřítomné halogenované kontaminanty životního prostředí a potravních řetězců. Tyto látky se díky svým unikátním vlastnostem (chemická stabilita, hydrofobní a oleofobní charakter PFAS; BFR mají schopnost snižovat riziko vznícení ošetřeného materiálu) používají v řadě průmyslových aplikací a spotřebitelských produktech.

S ohledem na to, že se tyto polutanty hromadí v živých organismech včetně člověka, a jejich expozice je často spojena i s řadou negativních účinků na lidské zdraví (hepatotoxicita, vývojová toxicita, imunotoxicita, neurotoxicita a narušení hormonální rovnováhy) jsou PFAS a BFR v popředí zájmu Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA). V nedávné době EFSA vyhodnotil, že dietární příjem patří mezi hlavní expoziční cesty těmto látkám, přičemž ryby a mořské plody patří mezi nejkontaminovanější potravinovou komoditu.¹ Vzhledem k tomu, že popularita mořských plodů v České republice vzrůstá a jejich konzumace je často doporučována jako přirozený zdroj jódu a omega-3-mastných kyselin, je nutné monitorovat obsah těchto kontaminantů pro posouzení rizika a odhad denního příjmu.

2. Cíl práce

Cílem prezentované studie bylo zhodnotit výskyt a expozici běžné populace PFAS, BFR a několika metabolitů (bromované fenoly, hydroxy deriváty polybromovaných difenyletherů) v mořských plodech, které jsou dostupné v běžné obchodní síti České republiky. V rámci monitoringu byl vyšetřen soubor 27 vzorků zahrnující hlavonožce (chobotnice, oliheň, sépie, kalamáry), krevety a slávky. Podrobný popis vzorků je shrnut v **Tabulce I**.

Tabulka I *Přehled vyšetřovaných vzorků*

Kód vzorku	Živočich	Stav	Lokalita výlovu FAO / země původu	Detaily
vz. č. 1	chobotnice	čerstvé	severovýchodní Atlantik, FAO 27	pultový prodej
vz. č. 2	chobotnice	konzervované	Španělsko	v rostlinném oleji
vz. č. 3	chobotnice	chlazené	x	ve slunečnicovém oleji
vz. č. 4	chobotnice	mražené	Tichý oceán, FAO 71	x
vz. č. 5	chobotnice	čerstvé	středovýchodní Atlantik, FAO 34	pultový prodej
vz. č. 6	kalamáry	konzervované	Španělsko	ve slunečnicovém oleji
vz. č. 7	kalamáry	konzervované	Indonésie, FAO 51	uzené v rostlinném oleji
vz. č. 8	oliheň	čerstvé	jihozápadní Atlantik, FAO 21	pultový prodej
vz. č. 9	sépie	mražené	severní část jihovýchodního pacifiku, FAO 81	vařené s přidanou vodou
vz. č. 10	sépie	mražené	jihovýchodní Atlantik, FAO 47	vařené s přidanou vodou
vz. č. 11	krevety	mražené	Bangladéš (farmový chov)	vařené, loupané
vz. č. 12	krevety	mražené	Tichý oceán FAO 51-57	loupané
vz. č. 13	krevety	mražené	Vietnam (farmový chov)	koktejlové, předvařené

¹ Results of the monitoring of perfluoroalkylated substances in food in the period 2000 – 2009; EFSA Journal 2011, 9 (2), 2016.

Kód vzorku	Živočich	Stav	Lokalita výlovu FAO / země původu	Detaily
vz. č. 14	kreveť	konzervované	severovýchodní a severozápadní Atlantik, Tichý oceán, FAO 21, 27, 77	ve slanném nálevu
vz. č. 15	kreveť	mražené	x	x
vz. č. 16	kreveť	čerstvé	Vietnam (farmový chov)	pultový prodej
vz. č. 17	kreveť	čerstvé	Vietnam (farmový chov)	pultový prodej
vz. č. 18	kreveť	mražené	Tichý oceán FAO 77	koktejllové
vz. č. 19	kreveť	mražené	jihozápadní Atlantik FAO 41	nevařené, neloupané
vz. č. 20	mušle	konzervované	Španělsko	v nálevu escabeche
vz. č. 21	mušle	konzervované	severovýchodní Atlantik, FAO 27	ve slanném nálevu
vz. č. 22	mušle	chlazené	x	ve slunečnicovém oleji
vz. č. 23	mušle	mražené	x	vyloupané
vz. č. 24	slávky	mražené	Chile	vařené, vyloupané
vz. č. 25	slávky	čerstvé	severovýchodní Atlantik, FAO 27	x
vz. č. 26	slávky	mražené	Čile (farmový chov)	x
vz. č. 27	slávky	čerstvé	severovýchodní Atlantik, FAO 27	pultový prodej

3. Sledované analyty

Celkem bylo sledováno 30 organohalogenovaných kontaminantů a jejich derivátů. Ze skupiny PFAS byla pozornost zaměřena na 11 perfluorkarboxylových kyselin (PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFuDA, PFDoA, PFTrDA, PFTeDA), pět perfluorsulfonátů (PFBS, PFHxS, Br-PFOS, L-PFOS a PFDS) a tři perfluoroktansulfonamidy (PFOSA, N-MeFOSA a N-EtFOSA). Mezi sledované bromované metabolity patřily tři bromované fenoly (2,4-DBP; 2,4,6-TBP a PBP) a čtyři hydroxylované deriváty polybromovaných difenyletherů (6-OH-BDE 47, 4'-OH-BDE 49, 2'-OH-BDE 68 a 6'-OH-BDE 99). Poslední analyzovanou skupinou byly BFR, které byly reprezentovány TBBPA a třemi izomery HBCD.

4. Analytická metoda

K simultánnímu stanovení PFAS, BFR a několika bromovaných metabolitů byla validována extrakční metoda s analytickou koncovkou ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC–MS/MS).

Pro izolaci analytů z mořských plodů byla zvolena metoda QuEChERS (z angl. „*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*“), kdy po extrakci látek acetonitrem následuje přidavek solí NaCl a MgSO₄, které indukují oddělení vody přítomné ve vzorku a přidaného extrakčního rozpouštědla. Vzhledem k přítomnosti lipidů a dalších nepolárních složek matrice v extraktu bylo nutné do metody zařadit krok přečištění. K tomuto účelu byla zvolena disperzní extrakce na tuhou fázi (d-SPE) se sorbentem C18 pro odstranění nepolárních látek.

Pro identifikaci/kvantifikaci sledovaných sloučenin byla využita technika UPLC–MS/MS: kapalinový chromatograf Waters Acquity UPLC (Waters, USA) ve spojení s hmotnostně spektrometrickým detektorem Waters XEVO TQ-S. Analyty byly separovány na koloně Acquity BEH C18 (100 mm × 2,1 mm × 1,7 μm), Waters s použitím mobilní fáze ve složení (A) 5 mM octan amonný ve vodě a (B) methanol.

V rámci validace vyvinuté metody byla zhodnocena její výtěžnost (75–120%) a opakovatelnost (RSD, < 24%) na koncentrační hladině 0,06 ng/g, 0,5 ng/g a 0,1 ng/g pro PFAS, BFR a bromované metabolity, respektive. Pro validaci byly použity uměle kontaminované vzorky mušlí, krevet a hlavonožců, ve kterých bylo předtím vyšetřeno, zda obsahují cílové analyty. Limity kvantifikace (LOQ), 0,005 – 0,3 ng/g, byly stanoveny jako nejnižší bod kalibrační řady (připraveny tři různé matriční kalibrace pro vzorky ze skupiny hlavonožců, měkkýšů a krevet), kdy poměr signál šum (S/N) pro kvantifikační MRM (z angl. „*multiple reaction monitoring*“) přechod byl větší než 10 a pro konfirmační větší než 3.

5. Výsledky a diskuze

Ze sledovaných PFAS byl nejčastěji detekován L-PFOS ($n=17$, medián 0,05 ng/g) a perfluorkarboxylové kyseliny (PFCA), kdy nejvíce zastoupená byla PFTrDA ($n=17$, medián 0,15 ng/g) a ve více než 13 vzorcích byly stanoveny PFCA s délkou uhlíkového řetězce C9–C14. PFOA (medián 0,02 ng/g) byl detekován pouze v sedmi vzorcích. Celková koncentrace Σ PFAS se pohybovala v rozmezí 2,01 – 0,01 ng/g. Ze skupiny bromovaných látek byl v mořských plodech nejvíce zastoupen 2,4-DBP ($n=19$, medián 2,67 ng/g), dále 2,4,6-TBP ($n=11$, medián 1,10 ng/g) a v pěti vzorcích 2'-OH-BDE-68. Nálezy bromovaných metabolitů byly v rozmezí 0,41 – 191 ng/g. TBBPA a izomery HBCD nebyly detekovány v žádném analyzovaném vzorku.

Jak je z **Obr. 1** patrné, koncentrace PFAS a bromovaných metabolitů jsou velmi variabilní jak při srovnání jednotlivých vzorků, tak skupin mořských plodů, jmenovitě hlavonožců, krevet a mušlí. Z hlediska vlivu technologického zpracování nebyly prokázány rozdíly mezi hladinami v konzervovaných/vařených produktech a čerstvými mořskými plody. Mezi nejkontaminovanější vzorky patřila mražená chobotnice (Σ PFAS 2,01 ng/g) z oblasti FAO 71, dále konzervované krevety ve slaném nálevu (Σ PFAS 1,45 ng/g) z oblastí FAO 21, 27, 77 a slávky (Σ PFAS 1,75 ng/g) z oblasti FAO 27. Při porovnání detekované spektra PFAS v těchto třech vzorcích je patrné, že v prvních dvou dominovala především PFTrDA (59 a 27 %) a PFUDA (35 a 19 %), naopak ve slávkách byl majoritní PFOSA (60 %) a L-PFOS (18 %), PFCA byly minoritní (< 10%).

Jak již bylo zmíněno výše, mezi nejčastěji se vyskytující bromované látky patřily bromované fenoly. Tyto sloučeniny byly identifikovány jako přirozené složky charakteristického aroma mořských plodů.² Bromované fenoly se však používají i jako retardéry hoření, z nichž se syntetizují některé nefenolické látky, které se řadí do skupiny BFR.³ Vznik těchto látek byl také experimentálně prokázán *in vitro* v exponovaném organismu polybromovanými difenylethery (PBDE).⁴ Z **Obr. 1** je zřejmé, že 2,4-DBP a 2,4,6-TBP dominovaly převážně ve vzorcích mušlí. Nejvyšší nález 2,4-DBP, 191 ng/g, ve srovnání s ostatními vzorky o 1 – 2 řády vyšší, byl v mražených loupaných krevetách z FAO 51 – 57.

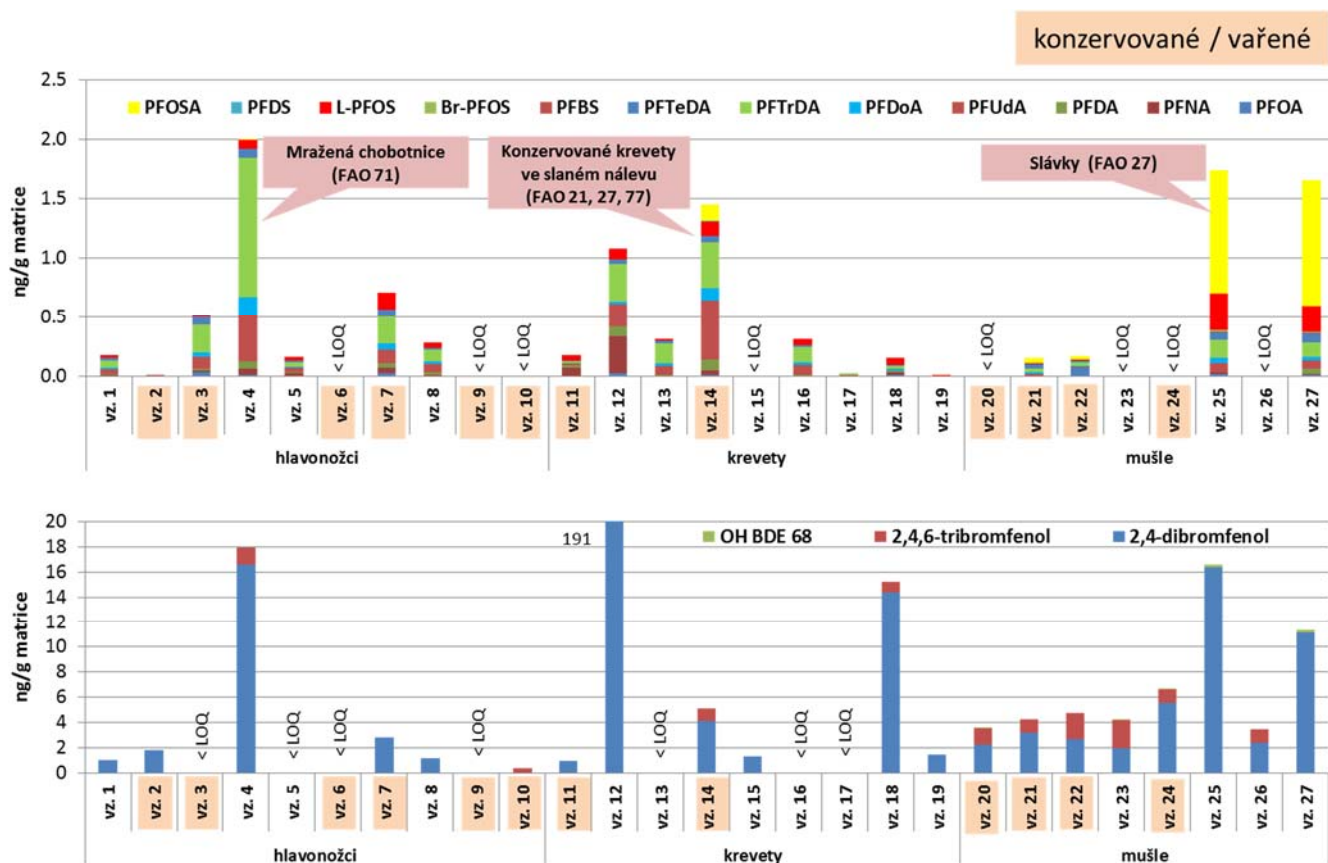
Dále byl v několika vzorcích mušlí nalezen 2'-OH-BDE-68. Původ OH-PBDE je zdrojem mnoha diskuzí, z jejichž závěrů vyplývají dvě teorie: (i) zdrojem těchto látek je metabolismus průmyslově vyrobených PBDE v exponovaném organismu (ryb, mořských savců i člověka), pro tyto metabolity je pak charakteristická vazba hydroxy skupiny v poloze *meta*- či *para*-, a (ii) velké množství těchto sloučenin je přírodními produkty řady nižších mořských organismů (pláštěnci, mořské houby), pro tyto OH-PBDE, mezi něž patří i detekovaný 2'-OH-BDE-68, je typická vazba OH- skupiny v poloze *ortho*- a non-hydroxylovaný kruh OH-PBDE je většinou substituován atomy bromu v pozici 2-/4-.⁵

² Dasilva V., Dacunhaveloso M., Deoliveira A., Santos G., Deppereira P., Deandrade J.: Determination of simple bromophenols in marine fishes by reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC), *Talanta* 2005, 68, 323–328.

³ Scientific Opinion on Brominated Flame Retardants (BFRs) in Food: Brominated Phenols and their Derivatives; EFSA Journal 2012, 10 (4), 2634.

⁴ Chen L.J., Lebetkin E.H., Sanders J.M., Burka L.T.: Metabolism and disposition of 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE 99) following a single or repeated administration to rats or mice, *Xenobiotica* 2006, 36 (6), 515–534.

⁵ Malmvärn A.: Brominated Natural Products at Different Trophic Levels in the Baltic Sea, Identification of Polybrominated Dioxins, Hydroxylated and Methoxylated Diphenyl Ethers. Department of Environmental Chemistry, 2007, Stockholm University.



Obrázek 1 Nález PFAS a bromovaných metabolitů (ng/g matrice) ve vyšetřovaném souboru vzorků ze skupiny hlavonožců, krevet a mušlí.

Na základě získaných dat byl odhadnut průměrný denní příjem (EDI – z angl. „Estimated Daily Intake“) PFOS a PFOA konzumací mořských plodů (**Rovnice 1**). Pro tyto kontaminanty byl stanoven tolerovatelný denní příjem vědeckým výborem (CONTAM Panel – z angl. „Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain“) EFSA, jmenovitě 150 ng/kg těl. hm./den pro PFOS a 1 500 ng/kg těl. hm./den pro PFOA. V současné době nejsou k dispozici přesné informace pro spotřebu mořských plodů v České republice. Pro výpočet byla brána hodnota 9,5 kg/osoba/rok, která je dohledatelná v databázi Organizace pro výživu a zemědělství (FAOSTAT⁶) pro potravní komoditu mořské ryby a mořské plody.

$$EDI \text{ (ng/kg těl. hm. /den)} = \frac{\text{koncentrace}_{\text{PFOS nebo PFOA}} \text{ (ng/g)} * \text{příjem (g/den)}}{\text{hmotnost (kg)}}$$

Rovnice 1 Výpočet denního příjmu PFOS a PFOA (příjem 26 g/den, hmotnost 70 kg)

Odhad byl realizován pro vzorky s nejvyšší koncentrací PFOS (VV 3868/14) a PFOA (VV 274/15). Pro dospělého člověka je příspěvek těchto kontaminantů k celkové expozici pouze < 0,5 % TDI. Lze tedy konstatovat, že mořské plody dostupné na českém trhu nepředstavují rizikovou potravní komoditu z hlediska příjmu PFOS a PFOA. Je však nutné zdůraznit, že ve významných koncentracích ve srovnání s PFOS a PFOA byly nalezeny PFCA s délkou uhlíkového řetězce C9–C14. Tento trend byl reportován v řadě studií s předpokladem většího bioakumulačního/biomagnifikačního potenciálu těchto látek v mořském ekosystému.⁷

⁶ Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT) <http://faostat.fao.org/site/610/DesktopDefault.aspx?PageID=610#ancor> (staženo dne 1.5.2015)

⁷ Conder J.M., Hoke R.A., De Wolf W., Russell M.H., Buck R.C.: Are PFCAs bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds, Environ Sci Technol 2008, 42, 995–1002.

6. Závěr

V rámci realizované studie byly vyšetřeny mořské plody ($n=27$), které byly zakoupené v české obchodní síti. Mezi nejčastěji detekované látky patřily PFAS (C10–C14 PFCA, PFOS) a bromované metabolity, které se přirozeně vykytují v mořském ekosystému (2,4-DBP > 2,4,6-TBP > 2'-OH-BDE 68). Retardéry hoření HBCD a TBBPA nebyly nalezeny v žádném z analyzovaných vzorků. V nejvyšších koncentracích byly kvantifikovány PFTrDA (medián 0,12 ng/g) a PFOSA (medián 0,09 ng/g). PFTrDA byla nejvíce zastoupena ve vzorcích krevet a hlavonožců, naopak PFOSA dominovala v muších.

Na základě získaných dat byl odhadnut denní příjem PFOS a PFOA pro českou populaci konzumací mořských plodů. Tato hodnota nepřekračuje 0,5 % TDI, takže mořské plody nepředstavují rizikovou skupinu z hlediska příjmu těchto fluorovaných kontaminantů. Je však nutno zvážit i rizika spojená se zvýšeným příjmem jiných kontaminantů vyskytujících se v mořských produktech, mezi ně se řadí methylrtuť, kadmium, dioxiny a další perzistentní organické polutanty.

7. Poděkování

Tato studie vznikla za podpory (i) "Operačního programu Praha – Konkurenceschopnost" (CZ.2.16/3.1.00/22197) a (ii) "Národního programu udržitelnosti" (NPU I (LO) MŠMT – 34870/2013).

R 37**CHARAKTERIZACE BIODEGRADOVATELNÉHO PLASTU NA BÁZI POLYBUTYLENSUKCINÁTU ZA ÚČELEM BALENÍ MASA**

Vytejšková S., Hradecký J., Vápenka L. (2), Poustka J.

1) Ústav analýzy potravin a výživy, Technická 5, 160 28, Praha-Dejvice

2) Ústav konzervace potravin, Technická 5, 160 28, Praha-Dejvice

Úvod:

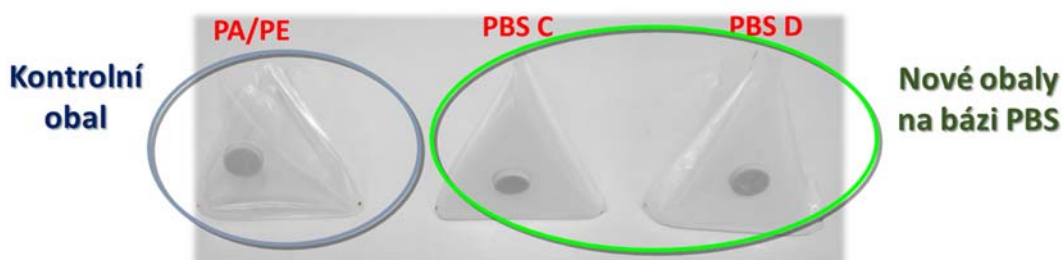
Tradiční obalové materiály jako jsou dřevo, tkaniny, sklo, papír a kov jsou v posledních několika desetiletích masově nahrazovány plastovými obaly. Tyto obaly ale představují ekologický problém, především díky jejich dlouhé životnosti (až stovky let) a současné akumulaci v životním prostředí. Plasty se zpracovávají několika způsoby, část se recykluje, další část se spaluje a největší množství plastového odpadu se skládá do půdy či do moří. Především spalování a skládkování jsou neekologické způsoby likvidace plastů. Proto je snaha vyvíjet nové obaly z obnovitelných zdrojů, které by se daly, po jejich využití, biodegradovat. Takový obalový materiál by měl zaručit bezpečnost a kvalitu potravin, přispět k mikrobiologické stabilitě potravin, udržet organoleptické a nutriční vlastnosti výrobku a zabránit migraci látek z obalu do potravin. V rámci projektu SUCCIPACK byly vyvinuty technologie a na jejich základě vyrobeny biodegradovatelné obaly na bázi polybutylensukcinátu (PBS), prozatím z fosilních zdrojů. Tyto obalové materiály byly následně testovány a porovnány s běžně využívanými obaly (PA/PE) pro balení potravin. Konkrétně byly zkoumány technologické parametry a kvalita či bezpečnost potravin při skladování v daném plastu.

Chemikálie:

- Chlorid sodný, p.a. (Lach-Ner, ČR)
- Směs alkanů C₈-C₂₀ (Sigma-Aldrich, ČR)

Vzorky plastových materiálů:

- PA/PE – kontrolní obal
- PBS C - PBSA/PBS+10%PBSA
- PBS D - PBSA/PBS+10%PBSA+10%talek



Pro testování kvality a bezpečnosti potravin při skladování byly vybrány vzorky masa – krůtí prsa, kuřecí prsa a uzená krůtí prsa. Vzorky byly zakoupeny ve firmě RADEV a zabaleny do tří typů obalového materiálu. Skladovány byly ve speciálně vyhrazené lednici při 4 °C.

Instrumentální analýza:**Stanovení pevnosti obalů**

Stanovení pevnosti obalů bylo provedeno pomocí přístroje Instron 5544 (Instron, Ltd. Velká Británie). Rozměr vzorku pro měření byl: 15 mm x 100 mm.

Stanovení tloušťky obalů

Tloušťka byla měřena pomocí mikrometru L&W typ 051 (AB Lorentzen & Wettre), pro každý vzorek v 10 paralelních opakováních.

Stanovení propustnosti obalů pro vlhkost

Stanovení propustnosti obalů bylo měřeno gravimetrickou metodou podle normy ČSN 770332, provedeno vždy v 5 paralelních opakováních.

Měření pH a aktivity vody

Hodnoty pH masa byly měřeny pomocí vpichové elektrody LE427 s teploměrem (Mettler Toledo), pH bylo u každého vzorku měřeno 3x, pokaždé v jiné části vzorku. Pro stanovení aktivity vody baleného masa byl použit přístroj pro měření aktivity vody AquaLab typ 4TE, měření probíhala ve dvou paralelních opakováních pro každý vzorek.

Měření rychlosti prostupu kyslíku

Rychlost prostupu kyslíku byla stanovena pomocí systému OX-TRAN, využívající coulometrický senzor. Plocha měřeného vzorku byla 50 cm², byla provedena 2 paralelní měření pro každý vzorek obalu.

Testování těkavých látek pomocí HS-SPME/GC/MS

Příprava vzorků masa:

Vzorek byl homogenizován (mixérem) a navážen do 10 ml vialek pro SPME. Do vialek bylo navažováno 2 g homogenátu, přidáno 2 ml nasyceného roztoku NaCl a následně byly vialky uzavřeny víčkem se septem. Takto připravené vzorky byly měřeny metodou HS-SPME/GC/MS.

Identifikace těkavých látek:

Identifikace vybraných analytů byla provedena pomocí knihovny hmotnostních spekter a následně potvrzena porovnáním retenčních indexů vypočtených a získaných z knihovny NIST 2008. Pro zjištění naměřených retenčních indexů byla změřena směs standardních alkanů za stejných podmínek jako při stanovení vlastních vzorků.

Software ChromaTOF provedl automatickou dekonvoluci koeluovaných látek (přibližně 170 analytů), dále srovnání intenzit jednotlivých analytů mezi všemi vzorky (na základě retenčních časů a podobnosti spekter), normalizace ploch píků a následné statistické porovnání. Naměřená data byla statisticky vyhodnocena pomocí multivariační analýzy a softwaru SIMCA.

Výsledky a diskuse:

1, Technologické parametry

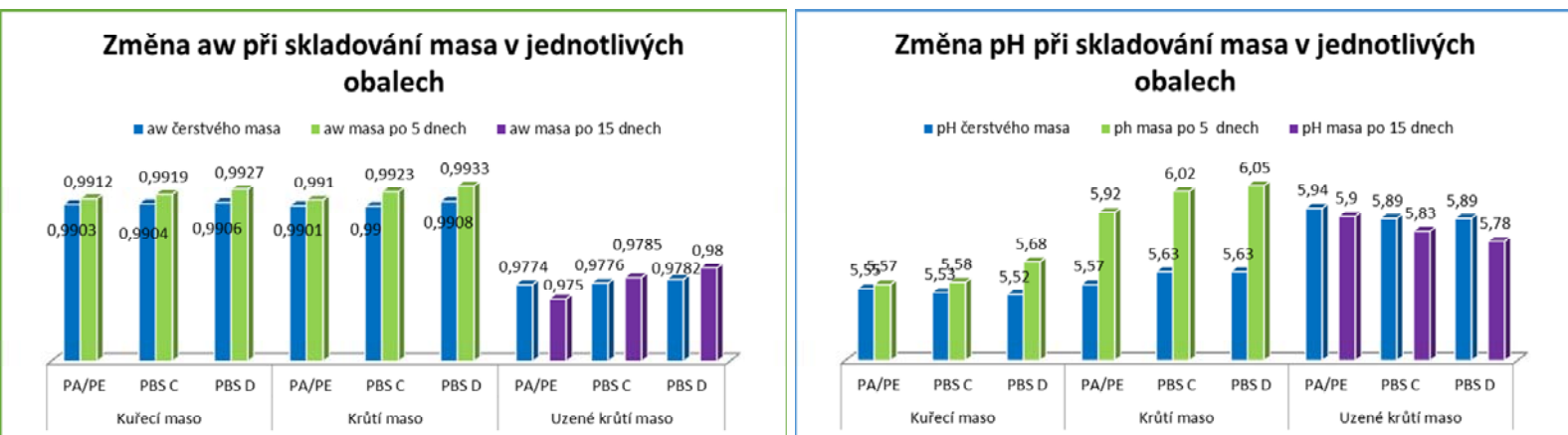
Byly testovány parametry, jako jsou tloušťka, propustnost pro vodní páru a kyslík nebo pevnost svárů po svaření obalu. Naměřené výsledky můžeme pozorovat v **Tab. I**. Tloušťka plastů na bázi PBS v porovnání s PA/PE je velmi podobná. Nicméně můžeme pozorovat odlišnost u změřené a deklarované tloušťky PA/PE. Propustnost pro vodní páru je 10 x vyšší u nových obalů na bázi PBS. Tyto obaly mají i vyšší propustnost pro kyslík. V případě masa, které má relativně vysoký obsah vody a skladuje se krátkou dobu (syrové 5 dní, uzené 15 dní) by tato skutečnost neměla negativně ovlivnit výrobek. Důležitým parametrem při samotné technologii balení výrobku do plastového obalu je pevnost svárů po vakuovém zabalení a zároveň transparentnost materiálu. Plastové obaly na bázi PBS jsou křehčí než kontrolní obal, snadněji se trhají při manipulaci, ale sváry zůstávají pevné po celou skladovací dobu. Dále jsou obaly na bázi PBS mírně mléčně zabarvené, čímž se mohou stávat méně vhodné pro balení čerstvého masa, kde je pro zákazníka důležité vidět barvu masa.

Tab I. Technologické parametry obalů

Obalový materiál	Tloušťka (μm)	Propustnost pro vodní páru (WVR) 23°C; RH=75% [g /m ² . d]	Propustnost pro O ₂ 23°C; RH=75% [ml/m ² . d]
PA/PE 90 – kontrolní obal (polyamide/polyethylene – 20/70 μm)	83.0 ± 0.2	2.08 ± 0.13 (2.8 ; 23°C, 85% - deklarováno výrobcem)	74.67 ± 0.79 (50 ; 23°C, 0% - deklarováno výrobcem)
PBS C (PBSA/PBS+10%PBSA)	81.0 ± 0.3	20.91 ± 1.07	87.37 ± 1.44
PBS D (PBSA/PBS+10%PBSA+10%talc)	80.1 ± 0.3	20.99 ± 0.92	85.12 ± 0.25

2, Kvalita a bezpečnost potravin

Testováno bylo pH, vodní aktivita, mikrobiální aktivita a profily těkavých látek a jejich změny v průběhu skladování v jednotlivých plastových obalech. Naměřené parametry byly porovnány s parametry v kontrolním plastu. Na **Obr. 1** můžeme pozorovat změny pH v průběhu skladování masa. V případě syrového kuřecího a krůtího masa došlo k mírnému nárůstu pH v průběhu skladování. U uzeného krůtího masa dochází k mírnému snížení pH. Obecně je možné pozorovat z **Obr. 1**, že plasty na bázi PBS mají podobný trend jako kontrolní PA/PE. U testování vodní aktivity nelze pozorovat žádné výrazné změny v průběhu skladování. Opět jsou výsledky plastů na bázi PBS velmi podobné kontrolnímu PA/PE. V případě mikrobiologické analýzy byl potvrzen předpoklad, že nejstabilnější je uzené krůtí maso, které je ošetřeno uzením. Můžeme pozorovat trendy velmi podobné kontrolnímu vzorku v PA/PE a nejsou zde pozorovatelné žádné významné odlišnosti od běžně používaného materiálu.

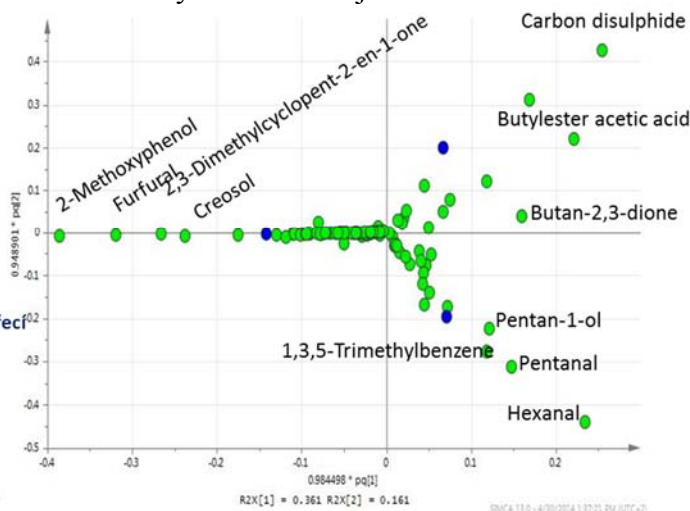
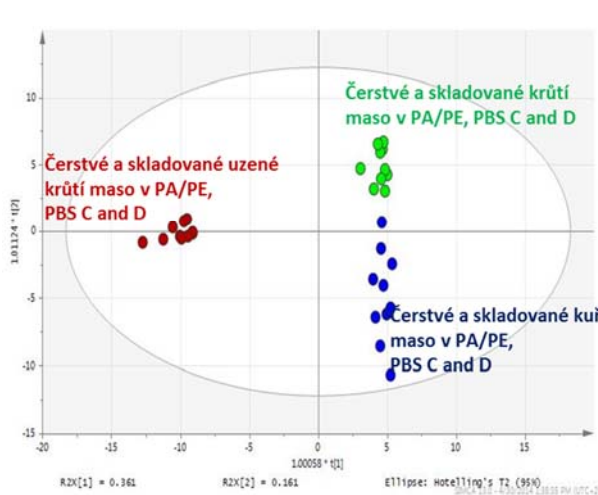


Obr. 1 Změna a_w a pH při skladování masa v jednotlivých obalech

Při testování změny profilů těkavých látek v průběhu skladování bylo celkově zhodnoceno, že jednotlivé matrice se od sebe v jednotlivých plastových obalech významně neliší. Po statistickém zpracování naměřených dat profilů těkavých látek jsme dostali graf **Obr. 2**, kde můžeme pozorovat klastry (shluky), které se vytvořily především na základě druhu masa, tudíž na vliv typu obalu a doby skladování není významný. Na grafu **Obr. 3** jsou identifikovány markery, které jsou nejvíce zodpovědné za oddělení daného klastru od jiného. U syrového drůbežího čerstvého i skladovaného masa můžeme identifikovat především sirné látky, aldehydy, alkoholy a ketony. V uzeném drůbežím masu zase identifikujeme kromě látek přirozeně přítomných v masu také látky pocházející z udicího kouře, čímž je tato matrice úplně odlišná od syrového drůbežího masa.

Obr. 2 Statistické zpracování (PLS-DA)

Obr. 3 Markery charakterizující odlišnost



Závěr:

Naměřené parametry prokázaly použitelnost testovaných materiálů na bázi PBS pro balení syrového a uzeného drůbežího masa. Přestože se výsledky pro jednotlivé parametry, více či méně liší od běžně používaného materiálu PA/PE, bylo zjištěno, že tyto rozdíly nejsou významné pro potraviny vykazující vysokou aktivitu vody a jejich doba spotřeby není příliš dlouhá (syrové drůbeží maso – 5 dní, uzené drůbeží maso – 15 dní).

R 38**BEZPEČNOST OBALŮ POTRAVIN NA BÁZI PAPÍRU**

Vápenka L. (1), Vavrouš A. (2), Votavová L. (1), Dobiáš J. (1)

¹ Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, Praha 166 28² Oddělení pro chemickou bezpečnost výrobků, Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, Praha 100 42**Úvod**

Tlak na výrobce obalů z důvodu zvyšování objemu znovu používaného obalového odpadu, které vede k nabízení papírů a lepenek s obsahem recyklátu pro kontakt s potravinami, a to, že stále neexistuje harmonizovaná evropská legislativa pro papír jako obalový materiál, vyúsťuje v nutnost podrobněji se zabývat bezpečností této skupiny obalů. Především je potřeba zabývat se problematikou kontaminace papírových obalů z výroby a zpracování papíru, ale i ze samotného procesu recyklace. Dále je nutné posuzovat možnosti kontaminace samotných potravin z těchto obalů a to jak na úrovni přenosu látek při přímém kontaktu potravin s obalem, tak i na úrovni nepřímého přenosu např.: přes funkční bariéry.

V práci byla použita technika GC-MS a to v rámci necíleného screeningu, při kterém bylo úkolem nalézt a identifikovat co nejvíce látek vyskytujících se v obalových papírech. Pro kvantifikaci vybraných látek byly použity techniky GC a LC-MS/MS.

Vzorky

Necílený screening kontaminantů byl proveden u 91 vzorků papírových obalů. Cílenému screeningu bylo podrobeno 130 vzorků papíru. Kromě vzorků papírů odebraných z role a přířezů, pro které nebyl znám účel konkrétního použití, byly testovány i obaly ve formě svačinových pytlíků, různé krabičky, pečící papíry, tácky a talířky, obaly na mouku, košíčky na muffiny, filtry na kávu, krabice na pizzu, pečící papíry atd. Obsah recyklovaného papíru ve vzorcích se pohyboval od 0 do 100 %. Plošná hmotnost analyzovaných papírů se pohybovala od 80 do 200 g/m².

Příprava vzorků

Pro necílený screening bylo 0,5 g vzorku rozřezaného na části o velikosti 3 × 3 mm extrahováno v ultrazvukové lázni po dobu 30 minut v 10 ml rozpouštědla (hexan nebo metanol). Extrakty byly slity a odpařeny do sucha na vakuové rotační odparce při 35 °C. Suchý odparek byl rozpuštěn ve 2 ml daného rozpouštědla, přefiltrován přes filtr do vialky a dále analyzován na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí.

V případě cíleného screeningu byl 1,0 g vzorku rozřezán na části o velikosti 2 × 10 mm přidán do 20 ml extrakčního rozpouštědla, kterým byla směs acetonitril/voda 1:1 (v/v) nebo isopropanol/voda 1:1(v/v) s přidáním 100 µl roztoku vnitřního standardu a extrahován 15 minut v ultrazvukové lázni. Následně byla provedena extrakce kapalina/kapalina v souladu s metodou QuEChERS, čímž vznik první extrakt vzorku papíru. Pro měření na HPLC–MS/MS byly všechny první extrakty zředěny stejným množstvím ultračisté vody. Nástřiku vzorku na GC-MS/MS předcházelo vysušení tohoto extraktu přidáním MgSO₄.

Analýza vzorků

Necílený screening vzorků papírů byl proveden na GC-MS, kterým byl plynový chromatograf Agilent 6890 s hmotnostním detektorem Agilent 5973N, hodnota electron impact ionization byla nastavena na hodnotu 70 eV při teplotě zdroje 230 °C a teplotě analyzátoru 150 °C. Pro měření byla použita kapilární kolona DB-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), mobilní fáze bylo helium o konstantním průtoku 1 ml/min a lineární rychlosti 36 cm/s, objem nástřiku byl 1 µl ve split modu 1:1 při teplotě 250 °C. Teplota pece byla konstantní po dobu 1 minuty při 40 °C, poté následoval nárůst teploty na 325 °C rychlostí 10 °C/min a výdrž při 325 °C po dobu 15 minut při 325 °C.

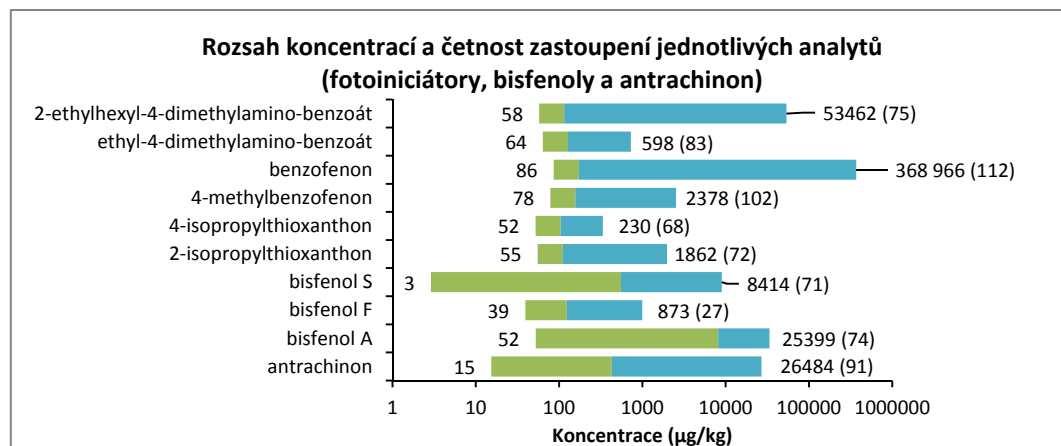
Techniky HPLC-MS/MS a GC-MS/MS byly použity v případě cíleného screeningu. HPLC analýzy byly provedeny na přístroji Agilent 1200 HPLC ve spojení s trojitým quadrupólem Agilent 6490 a ionizací pomocí elektrospreje (ESI). Vzorek (20 µl) byl nastříknut na kolonu Poroshell 120 EC-

C18 (délka 15 cm, vnitřní průměr 3 mm, velikost částic 2,7 μm) temperovanou při 40 °C. Mobilní fáze se skládala ze 2 fází: 2mM octanu amonného v ultračisté vodě (A) a 2mM octanu amonného v metanolu (B). Počáteční složení mobilní fáze bylo 20 % B, které ve 2 minutě lineárně vzrostlo na 60 % B, v 10 minutě lineárně vzrostlo na 100 % B, při kterém bylo udržováno po dobu 2 minut. Měření technikou GC-MS/MS bylo provedeno na plynovém chromatografu Trace 1310 GC s teplotně programovatelným (PTV) nástřikem ve spojení s trojitým quadrupólem TSQ Quantum XLS Ultra. Extrakt vzorku (5 μl) byl nastříknut do PTV injektoru vyhřátého na 40 °C, rozpouštědlo bylo odpařeno průtokem hélia. Následně byl injektor vyhřát na 280 °C při rychlosti ohřevu 14,5 °C/s. Použitou kolonou byla Rxi-PAH Restek kolona s délkou 30 m, vnitřním průměrem 0.25 mm a tloušťkou stacionární fáze 0,10 μm . Teplota pece byla na začátku udržována na 50 °C po dobu 2 minut a následně vzrostla na 150 °C, rychlostí 10 °C/min vzrostla na 210 °C, na 270 °C vzrostla rychlostí 20 °C/min, rychlostí 3 °C/min na 285 °C a na konečnou teplotu 325 °C vzrostla rychlostí 20 °C/min, výdrž této konečné teploty byla 3 minuty. Mobilní fází bylo helium.

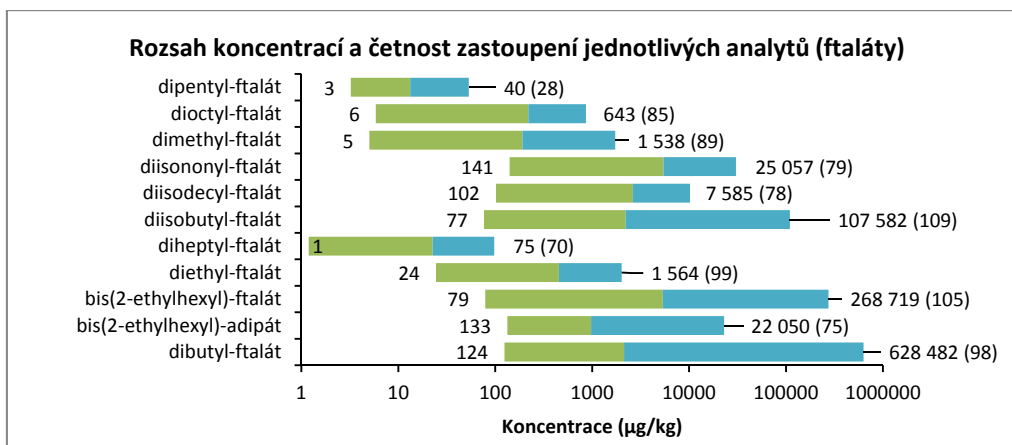
Výsledky

Necílovým screeningem bylo analyzováno celkem 91 vzorků obalových papírů a v nich bylo identifikováno 102 kontaminující látek, které by se z nich mohly uvolňovat do balených potravin. Obecně byla nalezena zejména residua fotoiniciátorů (benzofenon a jeho deriváty, *p*-metylbzenzofenon, methyl-2-benzoylbenzoát; dimetoxymetylacetofenon) a to i v některých vzorcích bez potisku, dále pak isomery diisopropylnaftalenu (využívané jako rozpouštědla ve snadno propisovacích papírech), antrachinon (redox katalyzátor sloužící k ochraně celulosových vláken před jejich degradací při sulfitovém způsobu výroby papíru a k oddělení ligninu), bisfenol A, uhlovodíky (alifatické od C12 do C28), změkčovadla (estery ftalové kyseliny, diisooktyladipát, tributylfosfát, diethylen glykoldibenzoát), 1-fenantren karboxylová kyselina (adhezivum používané při výrobě obalů) a další. Byl prokázán vyšší obsah xenobiotik v obalových materiálech s vyšším obsahem recyklované papíroviny. Přitom některé kontaminanty bylo možné identifikovat jen v papírech s vyšším obsahem recyklátu (např. isomery diisopropylnaftalenu (DIPNs) a diethylen glykoldibenzoát). Tyto látky by bylo možné využít jako markery přídavku recyklované papíroviny do obalových materiálů.

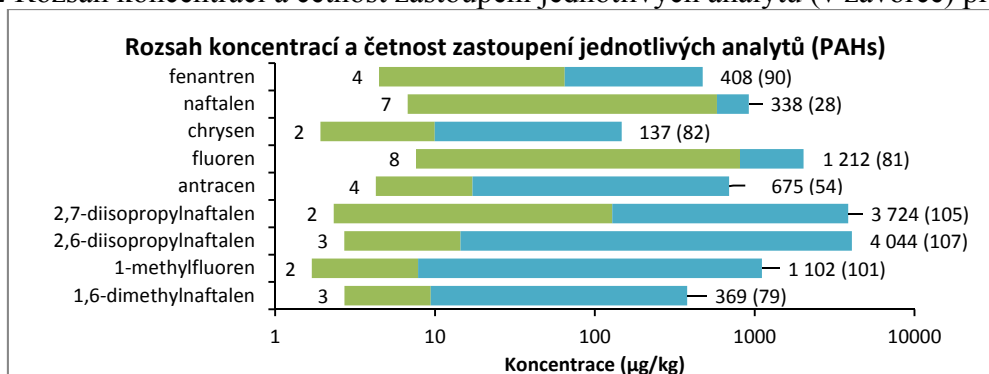
Na základě výsledků necíleného screeningu a z údajů uvedených v odborné literatuře, bylo vybráno 68 kontaminujících látek, které byly kvantifikovány technikami GC-MS/MS a HPLC-MS/MS ve 130 vzorcích papíru. Výsledky této kvantifikace v grafech jsou uvedeny na obrázcích 1 až 4, na těchto grafech je uvedena minimální a maximální koncentrace příslušných kontaminantů (v μg kontaminantu na kg papíru) nalezená v jednotlivých vzorcích, za hodnotou maximální koncentrace je v závorce uvedena i četnost s jakou se daný kontaminant v těchto vzorcích vyskytoval.



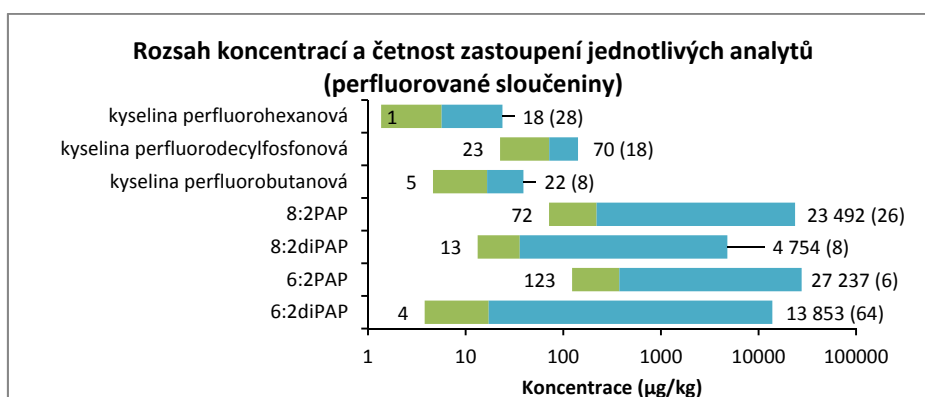
Obrázek 1 Rozsah koncentrací a četnost zastoupení jednotlivých analytů (v závorce) pro fotoiniciátory, bisfenoly a antrachinon.



Obrázek 2 Rozsah koncentrací a četnost zastoupení jednotlivých analytů (v závorce) pro ftaláty.



Obrázek 3 Rozsah koncentrací a četnost zastoupení jednotlivých analytů (v závorce) pro polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich substituenty.



Obrázek 4 Rozsah koncentrací a četnost zastoupení jednotlivých analytů (v závorce) pro perfluorované sloučeniny.

Závěr

Výsledky této práce poukazují na znepokojivou situaci z hlediska bezpečnosti papírových obalů. Byly nalezeny vysoké koncentrace i četnosti výskytu endokrinních disruptorů (bisfenol A a S, ftaláty), potencionálních kancerogenů (antrachinon) a dalších. Papírové obaly bez recyklátu obsahovaly řádově nižší koncentrace látek, recyklát tedy významně přispívá k jejich celkové kontaminaci. Výsledky této práce dávají důvod k obavám z bezpečnosti těchto materiálů, ale je potřeba si uvědomit, že celková bezpečnost závisí na zohlednění mnoha faktorů. Důležité je především posouzení možností přenosu kontaminantů do potravin, které závisí na povaze potravin a migrantů, na podmínkách skladování atd. Dalším významným faktorem omezující přenos látek do potravin mohou být funkční bariéry, které jsou ve spojitosti s obaly na bázi papíru hojně využívány. Především je potřeba dalších studií zaměřujících se na možnosti přenosu těchto

látek z papíru do potravin. Jako jedno z opatření pro snížení rizika z používání papírových obalů by měla sloužit i efektivní kooperace mezi výrobcem a uživatelem obalového materiálu.

Poděkování

Tato práce byla financována z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2015): A1_FPBT_2014_006 a z výzkumného projektu MZ ČR (projekt č. NT/14375).

Literatura

1. Triantafyllou, V. I.; Akrida-Demertzi, K.; Demertzi, 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.
2. Binderup, M.-L.; Pedersen, G. A.; Vinggaard, A. M.; Rasmussen, E. S.; Rosenquist, H.; Cederberg, T.: Toxicity testing and chemical analyses of recycled fibre-based paper for food contact. *Food Additives and Contaminants*, 2002, 19 :13-28.
3. Suci, 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. Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food, EFSA Journal 2012;10(6):2704.

P 1**SLEDOVÁNÍ PROFILŮ OPIOVÝCH ALKALOIDŮ V MÁKU SETÉM (*PAPAYER SOMNIFERUM* L.)**

Bícová M., Krtková V., Chmelařová H., Hajšlová J.

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

Úvod:

Ve střední a východní Evropě má mák setý (*Papaver somniferum* L.) široké uplatnění v potravinářském průmyslu, zvláště pak v řadě pekařských výrobků. Kvalita máku je hodnocena mimo jiné i podle obsahu opiových alkaloidů. Celkově se v rostlinách máku vyskytuje až 50 alkaloidů. Ve zralém máku se opiové alkaloidy vyskytují hlavně v makových palicích. Nesprávným způsobem sklizně a zpracování či napadením makovic škůdci může docházet ke kontaminaci povrchu semen těmito alkaloidy. V posledních letech začala EFSA upozorňovat při hodnocení rizik na řadu případů míchání kvalitního potravinářského máku (mák semenný – olejný) s mákem technickým (mák opiový), který je pro vysoký obsah opiových alkaloidů primárně užíván pro farmaceutické účely. A právě vysoký obsah opiových alkaloidů ve vzorku máku může být důkazem způsobu falšování potravinářského máku setého. V současné době neexistuje mezinárodně uznávaná hodnota pro toxicitu makových semen. Pro Českou republiku je stanoveno vyhláškou č. 399/2013 Sb. maximální obsah opiových alkaloidů na 25 mg/kg na povrchu makových semen.

V rámci uvedené studie byly porovnány profily vzorků máku setého se zaměřením na opiové alkaloidy morfin, tebain, kodein, narkotolin, corytuberin, laudanosin, papaverin, retikulin, oripavin a noskapiin ve vzorcích máku setého určeného pro potravinářské účely pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní detekcí (HPLC-HRMS).

Klíčová slova: opiové alkaloidy, HPLC-HRMS, mák setý

Chemikálie a materiál:

- ♦ Filtrační papíry Munktell Filtrak č. 390 (Vitrum, Česká republika)
- ♦ Methanol, pro LC-MS LiChrosolv® (Merck, Německo)
- ♦ Acetonitril (Sigma-Aldrich, USA)
- ♦ Mravenčan amonný 99,99 % (Sigma-Aldrich, Německo)
- ♦ Kyselina mravenčí, p.a. 98 % (Sigma-Aldrich, Německo)
- ♦ Kyselina octová, glacial, 99,99 % (Sigma-Aldrich, Německo)

Vzorky:

Pro sledování profilů opiových alkaloidů byly použity vzorky máku setého určeného pro potravinářské použití.

Příprava vzorku:

5 g dostatečně promísených nepomletých semen máku bylo naváženo do 100ml Erlenmayerovy baňky. Ve zralém mákuse alkaloidy nevyskytují uvnitř semen, jde o povrchové znečištění z makových palic, z tohoto důvodu jsou tedy analyzována nepomletá maková semena. Vzorek je extrahován 50 ml roztoku 0,1% kyseliny octové v methanolu na třepačce po dobu 30 min (210 ot./min). Následně byl extrakt přefiltrován přes filtrační papír do 100 ml odměrné baňky a filtrační koláč byl důkladně promyt extrakčním činidlem. Extrakt byl poté doplněn po rysku a převeden do vialky pro LC-MS analýzu.

Identifikace:

K analýze opiových alkaloidů byla využita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie - kapalinový chromatograf Acquity UPLC (Waters, USA) s hmotnostním spektrometrem Exactive (Thermo Fisher Scientific, USA), (**Tab. I a II**).

Tab. I: Charakteristiky kapalinové chromatografie

Kolona	Atlantis HILIC kolona 100 x 2,1 mm, 3 µm (Waters,USA)
Mobilní fáze	A: 50 mM mravenčan amonný ve vodě (pH 3) B: acetonitril
Teplota kolony/autosampleru	35 °C/5 °C
Objem nástřiku	5 µl
Průtok	0,4 ml/min

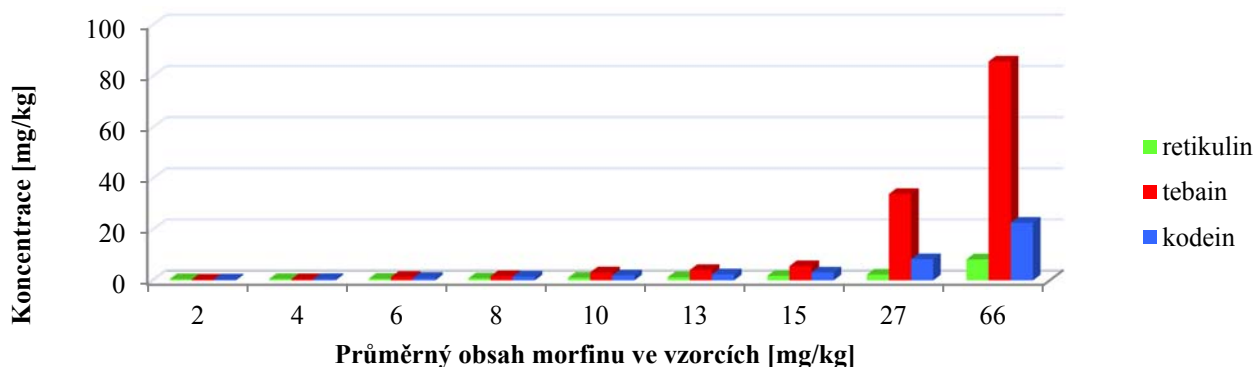
Tab. II: Podmínky hmotnostní spektrometrie

Mód ionizace	ESI+
Hmotnostní rozsah m/z	60 – 1000
Rozlišení	50 000 FWHM
Napětí sprejovací kapiláry	3,5 kV
Teplota na kapiláře	275 °C
Napětí na kapiláře	60 V
Napětí na sběrači	25 V
Akviziční rychlost	2 spektra/s

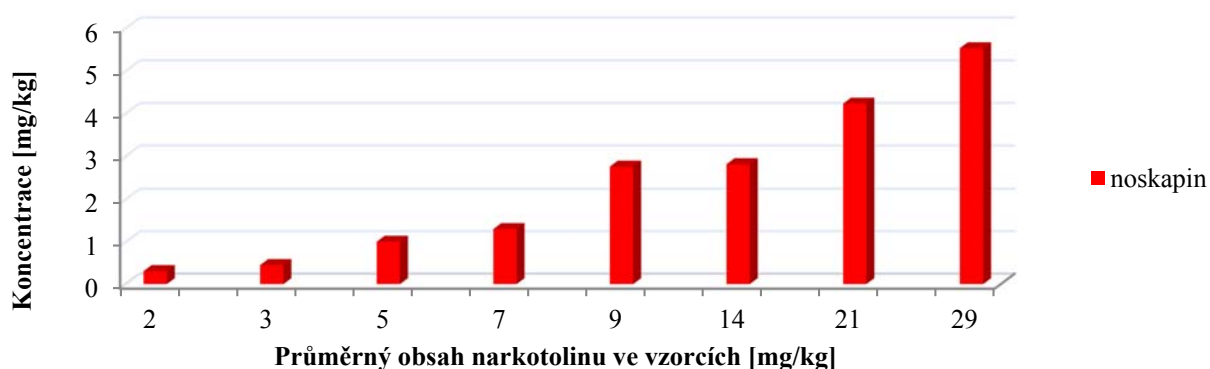
Výsledky a diskuze:

Celkem bylo analyzováno 50 vzorků máku setého určeného pro potravinářské účely. Ve vzorcích byl stanoven jak nízký obsah opiových alkaloidů, pohybující se od 0,5 mg/kg, tak vysoký obsah opiových alkaloidů, až 70 mg/kg. Tento vysoký obsah opiových alkaloidů může být důkazem falšování potravinářského máku mísením s technickým typem. Pro studii byly vybrány jen některé alkaloidy vyskytující se v majoritním či v minoritním množství uvedené v **Tab. III**.

Bylo zjištěno, že vyšší obsah morfinu ve vzorku koreluje s vyšším obsahem alkaloidů retikulinu, tebainu a kodeinu (**Obr. 1**). Ve vzorcích s nízkým obsahem morfinu byly naopak stanoveny hladiny nižší. Rovněž byla zjištěna závislost obsahu alkaloidu noskapinu na obsahu narkotolinu (**Obr. 2**). Se zvyšujícím se obsahem jednoho alkaloidu roste zároveň obsah i toho druhého. Ostatní minoritní opiové alkaloidy se vyskytují z 60 % pod hranicí LOQ 0,04 mg/kg. V ostatních případech nebyl vypořádan mezi alkaloidy žádný trend.

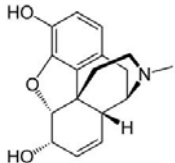
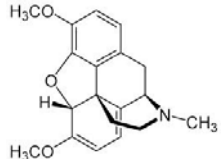
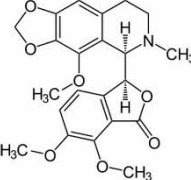
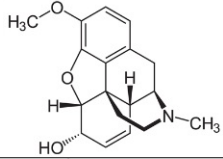
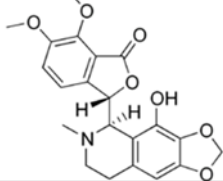
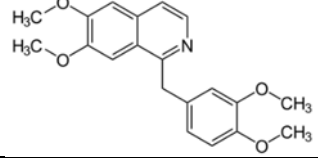


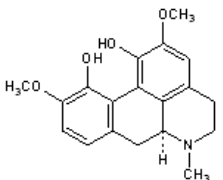
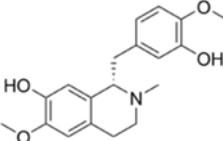
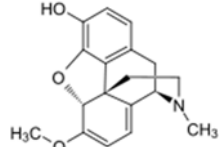
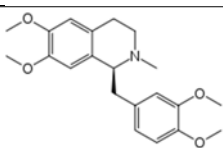
Obr. 1: Závislost průměrného obsahu morfinu na hladinách 2, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 27 a 66 mg/kg na průměrném množství retikulinu, tebainu a kodeinu.



Obr. 2: Závislost průměrného obsahu narkotolinu o obsahu 2, 3, 5, 7, 9, 14, 21 a 29 mg/kg na průměrném množství noskapinu ve vzorcích máku setém.

Tab. III: Seznam sledovaných alkaloidů

Alkaloid	Sumární vzorec	Přesná hmota aduktu $[M+H]^+$	Struktura
Majoritní alkaloidy			
Morfin	$C_{17}H_{19}NO_3$	286.1443	
Tebain	$C_{19}H_{21}NO_3$	312.1600	
Noskapin	$C_{22}H_{23}NO_7$	414.1553	
Kodein	$C_{18}H_{21}NO_3$	300.1600	
Narkotolin	$C_{21}H_{21}NO_7$	400.1396	
Papaverin	$C_{20}H_{21}NO_4$	340.1549	
Minoritní alkaloidy			

Corytuberin	$C_{19}H_{21}NO_4$	328.1549	
Reticulin	$C_{19}H_{23}NO_4$	330.1705	
Oripavin	$C_{18}H_{19}NO_3$	298.1443	
Laudanosine	$C_{21}H_{27}NO_4$	358.2018	

Závěr:

Pro odhalování falšování máku nebo pro stanovení máku s vysokým obsahem morfinu lze využít i stanovení jiných opiových alkaloidů kromě morfinu, protože se zvyšujícím se obsahem morfinu ve vzorcích máku, roste i množství alkaloidů retikulinu, tebainu a kodeinu. Stejná závislost byla zjištěna i v případě alkaloidů noskapinu a narkotolinu, kdy s poklesem obsahu jednoho alkaloidu poklesl i obsah druhého.

Literatura:

Ziegler, J.; Facchini, P. J.; Geißler, R.; Schmidt, J.; Ammer, Ch.; Kramell, R.; Voigtländer, S.; Gessel, A.; Pienkny, S.; Brandt, W. Evolution of morphine biosynthesis in opium poppy. *Phytochemistry* **2009**, 70, 1696–1707.

Scientific Opinion on the risks for public health related to the presence of opium alkaloids in poppy seeds. *EFSA Journal* [Online] **2011**, 9(11):2405.
<http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/2405.htm> (citováno květen 13, 2015).

Pospíšilová, M. Opiáty v máku v SRN, 2007. Internetový portál bezpečnosti potravin - Informační centrum bezpečnosti potravin. <http://www.bezpecnostpotravin.cz/opiaty-v-maku-v-srn.aspx> (citováno květen 13, 2015).

Nemeth-Zambori, E.; Jaszberenyi, C.; Rajhart, P.; Bernath, J. Evaluation of alkaloid profiles in hybrid generations of different poppy (*Papaver somniferum* L.) genotypes *Industrial Crops and Products* **2011**, 690/696.

Stranska, I.; Skalicky, M.; Novak, J.; Matyasova, E.; Hejnak, V. Analysis of selected poppy (*Papaver somniferum* L.) cultivars: Pharmaceutically important alkaloids. *Industrial Crops and Products* **2013**, 41, 120-126.

P 2**PROBLEMATIKA AMYGDALINU V POTRAVINÁCH**

Klimešová I., Kubík M., Marešová E.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Praha

Amygdalin je kyanogenní glykosid, který je přítomný zejména v rostlinách čeledi růžovitých (Rosaceae). Amygdalin se nachází v každé části rostliny, nejvíce je ho uloženo v semenech, kde slouží jako zásobárna dusíku ke klíčení a vývoji rostliny. Významným zdrojem amygdalinu jsou mandle, jádra meruněk, broskví, švestek a třešní. Kyanogenní glykosidy nejsou toxické, toxický je pouze kyanovodík vzniklý jejich rozkladem. Letální perorální dávka kyanovodíku pro člověka je 0,5-3,5 mg /kg tělesné hmotnosti. Velké rozpětí je dané zejména složením střevní mikroflóry. Příznaky požití amygdalinu se projevují bolestí hlavy, zvracením, nevolností, stísněným pocitem v hrdle a na hrudi, tlukotem srdce, svalovou slabostí, cyanosou až kómatem. Chronickým projevem intoxikace je tropická neuropatie. Detoxikace v organismu probíhá pomocí sirných iontů a vzniklé sloučeniny jsou vylučovány zejména močí. V poslední době byly popsány jisté antikarcinogenní účinky kyanogenních glykosidů, které se ale nepodařilo prokázat. Na trhu se poslední dobou začínají objevovat jádra meruněk, hořké mandle a také se množí podněty spotřebitelů na nedeklarované příměsi hořkých mandlí do mandlí sladkých. Uvádění výrobků na trh obsahujících amygdalin není sice přímo předpisy regulováno, avšak vzhledem k rizikům plynoucím ze zvýšené konzumace amygdalinu vyplynula potřeba, aby se kontrolní orgány touto problematikou zabývaly. Kvantifikace kyanogenních glykosidů v rostlinách se provádí buď kolorimetrickým stanovením množství kyanovodíku uvolněného po hydrolýze nebo stanovením jednotlivých kyanogenních glykosidů chromatografickými metodami. Pro účely kontrolní praxe byla vyvinuta a validována metoda založená na kapalinové chromatografii s UV detekcí.

P3

MOŽNOSTI ODHALENÍ PŘIBARVOVÁNÍ OVOCNÝCH PŘESNÍDÁVEK S JAHODAMI A JABLKY

Neradová E.¹ Zíková A.¹, Grégrová A.¹, Kovařík F.¹, Rajchl A.¹, Čížková H.¹

¹⁾ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav konzervace potravin, Technická 5, 16628 Praha 6

Úvod

Ovocné přesnídávky jsou obvykle sterilované směsi různých druhů ovoce oslazené cukrem, často i obohacené vitamíny, zahuštěné a rozmixované; lze k nim zařadit zpracované ovoce jak ve formě ovocného protlaku, tak i dřeně či pyré. Falšování těchto produktu spočívá nejčastěji v chybném označení obsahu jednotlivých složek (především v použití nižšího ovocného podílu než je minimální množství, které udává výrobce na etiketě výrobku), dalším způsobem falšování je chybná deklarace použitého druhu ovoce a také nedeklarované přibarvování různými extrakty z ovoce nebo zeleniny. Přibarvováním lze zamaskovat nižší podíl barevného ovoce nebo použití méně kvalitní suroviny. Mezi ovocné/zeleninové druhy, které jsou využívány k přibarvování ovocných přesnídávek s jahodami, patří například černý bez, černá mrkev, černý rybíz a granátové jablko. Cílem práce bylo ověření základních surovin a ověření možnosti odhalení přibarvovaných ovocných přesnídávek s obsahem jahod.

Vzorky

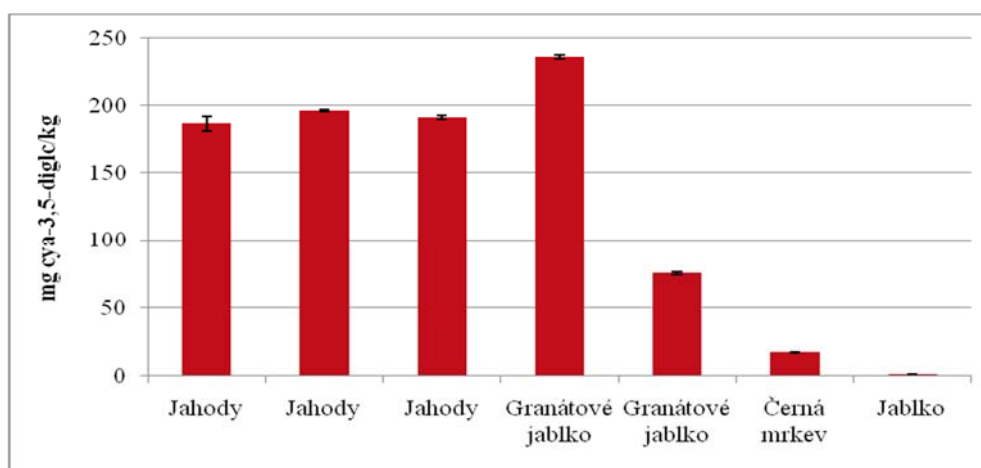
Analýzy byly provedeny na autentických vzorcích pyré z ovoce a zeleniny používaných při výrobě ovocných přesnídávek: jahody (3x ovoce), černý bez (3x ovoce, 1x koncentrát), černá mrkev (1x zelenina, 1x koncentrát), černý rybíz (1x ovoce), granátové jablko (2x ovoce), jablko (1x ovoce) a citrón (1x ovoce). Dále bylo analyzováno 12 vzorků přesnídávek s jahodami a jablky.

Metody

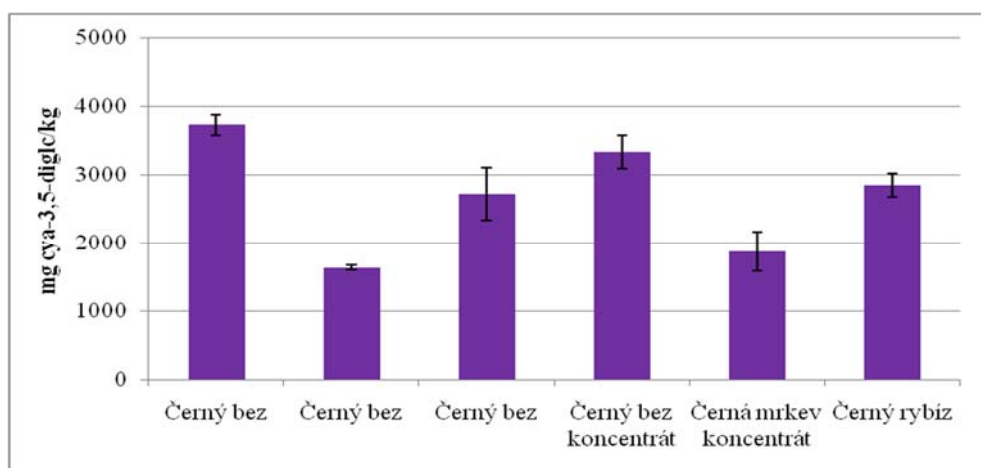
Pro hodnocení ovocných přesnídávek s jahodami a jablky byly použity následující metody: **Senzorická analýza** – kategorové ordinální hodnocení, **Barva** – systém CIELab, **Celkové anthokyan** – spektrofotometricky (pH diferenciální metoda), **Profil anthokyanů** – HPLC/DAD (metoda IFU 71) a **Stanovení ovocného podílu** - na základě srovnání tabelovaných dat referenčního materiálu AIJN (Association of the Industry of Juices and Nectars) pro autentické šťávy a pyré s naměřenými hodnotami vybraných markerů (refraktometrická sušina, titrační kyselost, formolové číslo, popel, fosfor, draslík, hořčík, vápník, jablečná a citrónová kyselina, sacharosa, glukosa, fruktosa, sorbitol, floridzin).

Výsledky a diskuze

Pro dosažení cíle byly nejprve analyzovány základní suroviny, které se používají při výrobě ovocných přesnídávek s jahodami a jablky. Z výsledků celkových anthokyanů měřených spektrofotometricky je patrná významná variabilita anthokyanových barviv, která ovlivňována především odrudou, stupněm zralosti a klimatickými podmínkami. Celkový obsah anthokyanů v ovoci/zelenině v intenzivně barevných druzích ovoce/zeleniny a koncentrátech je 10-30x vyšší než v jahodách a granátovém jablku (Obr. 1, 2).

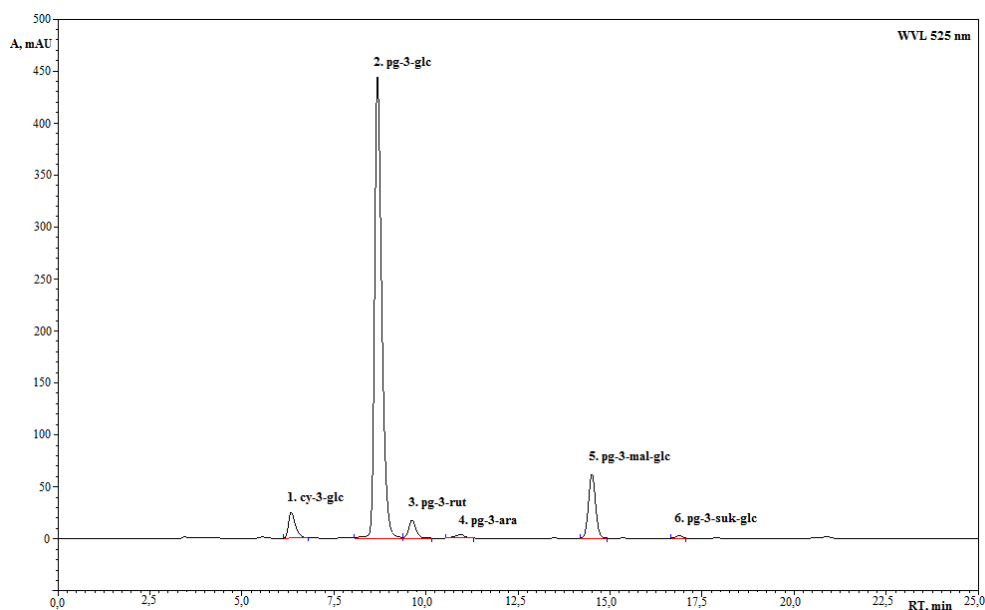


Obr. 1 Celkový obsah anthokyanů v jahodách, granátovém jablku, černé mrkvi a jablku



Obr. 2 Celkový obsah anthokyanů v černém bezu, černém rybízu a koncentrátu černé mrkve

Také profil anthokyanů v různých druzích ovoce/zeleniny se významně liší. Téměř ve všech autentických vzorcích surovin byl nalezen kyanidin-3-glukosid. Jako hlavní anthokyan v jahodách byl identifikován pelargonidin-3-glukosid (RT = 8,7 min), dále byl identifikován kyanidin-3-glukosid (RT = 6,3 min), pelargonidin-3-rutinosid (RT = 9,6 min), pelargonidin-3-arabinosid (RT = 10,9 min), pelargonidin-3-malonyl-glukosid (RT = 14,5 min) a pelargonidin-3-sukcinyl-glukosid (RT = 16,9 min) (Obr. 3). V granátovém jablku byly stanoveny 2 hlavní anthokyany: kyanidin-3,5-diglukosid a kyanidin-3-glukosid. V černém rybízu byly rovněž identifikovány 2 hlavní anthokyany: delfinidin-3-rutinosid a kyanidin-3-rutinosid. Hlavní anthokyany detekované v černé mrkvi měly základ kyanidinu, který obsahoval různé cukerné složky a byl acylován kyselinami (sinapovou, ferulovou a *p*-kumarovou). Všechny anthokyany nalezené v černém bezu byly glykosidy kyanidinu. V jablku byl identifikován pouze jeden anthokyan, kyanidin-3-galaktosid.

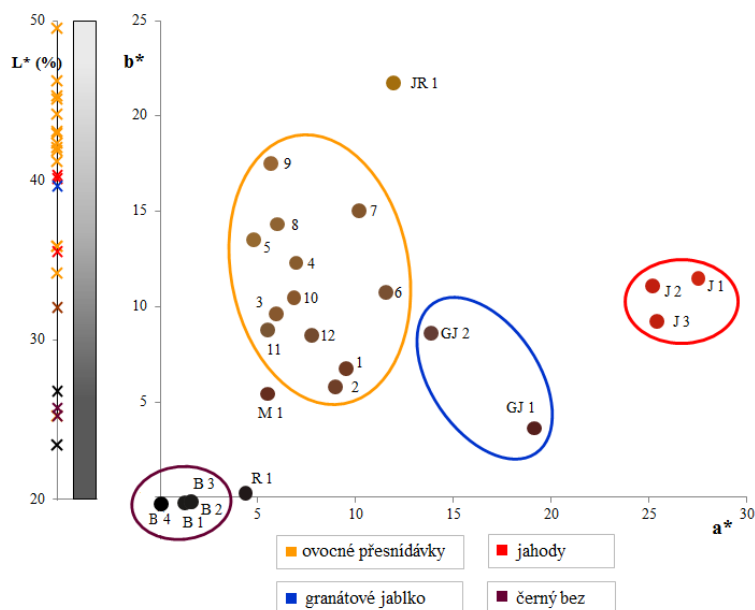


Obr. 3 Profil anthokyanů jahod

Následně bylo analyzováno 12 druhů ovocných přesnídávek s jablky a jahodami s deklarovaným celkovým ovocným podílem 60 – 100 %, přičemž podíl jahod z celkového ovocného podílu se pohyboval 15,4 – 33 %. Podrobné celkové zhodnocení ovocných přesnídávek je uvedeno v Tab. 1.

Nejprve byly přesnídávky podrobeny senzorické analýze. Celkově byly hůře senzoricky hodnoceny výrobky č. 4, 5, 8, 9, 11 a 12. Tyto vzorky byly převážně od zahraničních výrobců, obsahovaly vysoký podíl ovoce a většinou nebyly přibarvovány. Barva většiny přesnídávek byla hodnocena jako příliš hnědá. Naopak pozitivně byly hodnoceny přesnídávky, které byly přibarvovány černou mrkví (č. 1, 2, 6) a černou mrkví s granátovým jablkem (č. 3, 7, 10).

Z objektivního měření barvy výrobku v systému CIELab (Obr. 4) je patrné, že nejtypičtější (nejvíce jahodovou) barvu měly přesnídávky č. 1, 2, 6, 7 a jsou ve shodě se senzorickou analýzou (Intenzita jahodové barvy).



Obr. 4 Hodnocení barvy ovocných přesnídávek s ostatními druhy ovoce/zeleniny v systému CIELab

Výsledky celkového obsahu anthokyanů jsou, vzhledem ke značné degradaci anthokyanových barviv během výroby a skladování přesnídávek, také převážně ve shodě se senzorickou analýzou

a s měřením barvy. Nejvyšší obsah anthokyanových barviv byl zjištěn u přesnídávek č. 1, 2, 3, 7, 10.

Při hodnocení profilu anthokyanů byla u některých vzorků zjištěna přítomnost nedeklarovaných ovocných druhů. U vzorku 1, 2 a 6 byla zjištěna přítomnost kyanidin-3,5-diglukosidu, který je obsažen v granátovém jablku či černém bezu. Ve vzorku č. 2 byl navíc detekován pelargonidin-3,5-diglukosid, který je obsažen v granátovém jablku. U vzorku č. 7 byla zjištěna přítomnost anthokyanů charakteristických pro černou mrkev (kyanidin-3-xylosyl(feruloylglukosyl)-galaktosid a kyanidin-3-xylosyl(sinapoylglukosyl)-galaktosid).

Při stanovení ovocného podílu bylo nutné vzít v úvahu vliv obsahu dalších ovocných druhů ovoce či zeleniny deklarovaných na etiketách (černá mrkev, granátové jablko, černý bez) a pro které často nejsou známy rozsahy markerů pro hodnocení autenticity. Tím se zvyšuje i nejistota odhadu stanoveného ovocného podílu. Vzhledem k této nejistotě odpovídal stanovený ovocný podíl (%) deklarovanému obsahu ovocné složky.

Tab. 1 Srovnání deklarovaného ovocného podílu, stanoveného ovocného podílu, senzorické analýzy, celkových anthokyanů a profilu anthokyanů v ovocných přesnídávkách

Označení přesnídávky	Deklarovaný ovocný podíl (%) / Deklarovaný podíl jahod z celkového ovocného podílu (%)	Deklarovaná přítomnost dalšího druhu ovoce/zeleniny	Stanovený ovocný podíl (%)	Intenzita jahodové barvy ¹	Intenzita jahodové vůně a chuti ¹	Celkový obsah anthokyanů (mg cy-3,5-diglc/kg)	Detekovaný majoritní anthokyan	Detekovaná přítomnost ovocných/zeleninových druhů
1	60/25	černá mrkev	62,8 $\pm$ 20	1,6	2,4	5,7	Cy-3-xyl-glc-gal-fer	jahody, černá mrkev, granátové jablko/černý bez²
2	60/25	černá mrkev	64,5 $\pm$ 20	1,5	2,8	6,4	Cy-3-xyl-glc-gal-fer	jahody, černá mrkev, granátové jablko/černý bez²
3	85/24	mrkev, granátové jablko	76,1 $\pm$ 20	3,6	3,0	5,6	Pg-3-glc	jahody, černá mrkev, granátové jablko/černý bez
4	93,9/33	černý rybíz	91,7 $\pm$ 20	4,5	3,6	4,8	Pg-3-glc	jahody, černý rybíz
5	100/20	-	83,4 $\pm$ 20	4,8	3,7	3,4	Pg-3-glc	jahody
6	90/22,2	černá mrkev, citrón	96,6 $\pm$ 20	2,3	3,2	4,7	Cy-3-xyl-glc-gal-fer	jahody, černá mrkev, granátové jablko/černý bez²
7	91,5/27,3	černý bez	102,1 $\pm$ 20	3,7	3,1	6,9	Pg-3-glc	jahody, černý bez/granátové jablko, černá mrkev³
8	85/20	mrkev, granátové jablko	80,5 $\pm$ 20	4,1	3,2	1,3	Cy-3-xyl-glc-gal-fer	jahody, černá mrkev
9	100/20	-	94,3 $\pm$ 20	4,3	4,0	4,8	Pg-3-glc	jahody
10	85/23,5	mrkev, granátové jablko	77 $\pm$ 20	2,3	2,8	6,6	Pg-3-glc	jahody, černá mrkev
11	100/15,4	-	99,7 $\pm$ 20	3,9	4,4	1,7	Pg-3-glc	jahody
12	100/20	-	94 $\pm$ 20	3,1	4,0	4,9	Pg-3-glc	jahody

Pozn.: 1. Intenzita 1-5 (1 velmi intenzivní, 5 velmi málo intenzivní)

2. Zjištěná nedeklarovaná přítomnost granátového jablka nebo černého bezu

3. Zjištěná nedeklarovaná přítomnost černé mrkve

Závěr

Výsledky ukazují, že stanovení profilu anthokyanů pomocí HPLC-DAD lze využít jako jeden z markerů pro odhalení nesprávně značených nebo falšovaných výrobků na českém trhu. Na základě typických profilů anthokyanů byla u většiny vzorků dětských výživ ověřena přítomnost deklarovaných ovocných/zeleninových druhů a dále byla ověřena přítomnost jahod, jelikož převládajícím anthokyanem u většiny dětských výživ byl pelargonidin-3-glukosid. U některých vzorků však byly identifikovány i další anthokyany, charakteristické pro jiné ovocné/zeleninové druhy, což značí přítomnost nedeklarovaných přibarvovadel. Omezení metody bylo nalezeno především v nemožnosti kvantifikace barvicí potraviny a v problémech s identifikací v případě méně obvyklých a v odborné literatuře doposud málo popsanych zdrojů barvy (například plody mučenky, acai berry nebo květy ibišku).

Poděkování

Tento projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015): A1_FPBT_2015_002.

Seznam použité literatury

1. GOIFFON J. P., MOULY P. P., GAYDOU E. M.: Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 1999, vol. 382., p. 39–50.
2. OBÓN J. M., DÍAZ-GARCÍA M. C., CASTELLAR M. R.: Red fruit juice quality and authenticity control by HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, vol. 24, p. 760–771.
3. DÍAZ-GARCÍA M. C., OBÓN J. M., CASTELLAR M.R., COLLADO J., ALACID M.: Quantification by UHPLC of total individual polyphenols in fruit juices. *Food Chemistry*, 2013, vol. 138., p. 938–949.

P 4**COMBINED APPROACH FOR CHARACTERIZATION AND QUALITY EVALUATION OF APPLE JUICES - DART-TOF MS IMPLEMENTATION**

Al-Balaa D., Prchalová J., Kružík V., Rajchl A., Čížková H.
Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

INTRODUCTION

Apple juice is considered among the most consumed juices worldwide and the quality of apple juices available in the markets is established upon a comprehensive set of legislations like Codex Alimentarius general standard for fruit juices and nectars (Codex Stan. 247-2005) and the Czech Decree no. 335/1997 Coll. which clearly define the criteria of fruit juice, fruit juice from concentrate and concentrated fruit juice. Moreover, the Association of the Industry of Juices and Nectars (AIJN) had introduced a code of practice which relies upon the European Quality Control System (EQCS) for fruit juices, nectars and high fruit juice containing beverages to ensure compliance with legal and industry standards¹.

To assess the quality of apple juice, suitable advanced analytical techniques are needed as the adulteration practices are becoming more sophisticated besides the considerable variation between raw materials. Usually the reference analytical methods (IFU, CEN, AOAC and ISO) are used to measure various parameters and the resulted analytical data are compared with the established data published in the recognized standards and guidelines. Several analytical methods have been used, most of them are based on the chemical composition determination and the profile analysis of sugars, organic acids and minerals using techniques such as spectrophotometry, enzyme assays, capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography (HPLC) or gas chromatography (GC) coupled to various types of detectors².

Furthermore, methods for characteristic aroma profiles elucidation have been used as many volatile components are lost during the concentration processes. GC-MS techniques are the most common approach used to retrieve these profiles. It should be noted that many factors affect the aroma of apple juice including variety, climate, harvesting, storage conditions and the processing techniques^{3,4}. Other profiles which are the phenolic profiles are among the most established approaches used for apple juice quality evaluation. Their determination by HPLC has now overpowered other techniques like colorimetric analysis. LC methods coupled to diode array detection (DAD), ultraviolet detection (UV) and mass spectrometric (MS) techniques were used to determine main classes of polyphenols found in apple fruit like phenolic acids and their derivatives and flavonoids⁵.

Recently, metabolomics approaches have gained a remarkable position in different fields of research including the food quality and authenticity assessment. In the food metabolome, it is possible to screen and determine different components belonging to various chemical classes either by profiling or fingerprinting. In both approaches, the statistical treatment of obtained data allows efficient characterization of the targeted matrix^{6,7}. Nowadays, ambient ionization-MS techniques like direct analysis in real time DART are having a growing attention because of their potential of providing an abundant mass spectrum without the need of chromatographic separation or sample pretreatment and preparation⁸.

In the presented study, the aim was to use a combined approach for characterization and quality evaluation of a set of apple juices including direct juice and juice from concentrate types. The assessment of apple juices was done with a particular focus on the implementation of data acquired by direct analysis in real time coupled to time of flight mass spectrometer DART-TOF MS technique in an extensive statistical evaluation.

MATERIALS AND METHODS

Samples: A set of 23 apple juice samples consisted of 5 direct juice (201-205) from the Czech Republic market, 11 Juice from concentrate (101-111), Czech Republic market and 12 Juice from concentrate (301-312) from a European market.

Methods:

- Apple Juices absolute requirements and further requirements were determined using various methods.
- Aroma profiles acquisition using a solid-phase micro-extraction with gas chromatography-mass spectrometry method SPME GC-MS
- Optimizing DART-TOF/MS method for apple juices quality assessment: ionization temperature (300 °C was selected), ionization mode: negative and positive modes (the negative mode had more abundant mass spectrum) and m/z ratios selection
- The original samples were analyzed besides a set of falsified samples.

RESULTS AND DISCUSSION

In the primary phase of the quality evaluation of analyzed set of apple juices, various physical and chemical methods were used and the absolute requirements were determined, besides some further requirements that are necessary for quality evaluation. The results showed that all the assessed set of samples could be considered as authentic based on their determined fruit content and that no water or sugar was added, (see Table 1).

Table 1 Content of chemical markers used for fruit content calculation, fruit content and soluble solids.

No.	P (mg/kg)	Ash (g/kg)	Soluble solids (°Brix)	Formol number (ml 0.1 M NaOH/100 g)	Titratable acidity (g citric acid /kg)	K (mg/l)	Ca (mg/l)	Mg (mg/l)	Density (g/cm ³)	Citric acid (mg/l)	Malic acid (g/l)	Suc (g/l)	Glu (g/l)	Fru. (g/l)	Sor. (g/l)	Fruit content (g of fruit /100 g of product)
101	67.2	2.5	12.0	3.04	4.27	1096	167	64	1.047	< 200	5.1	15.7	22.6	57	3.5	110 $\pm$ 20%
102	67.2	2.1	11.9	4.59	4.52	625	59	27	1.046	< 200	5.1	15.1	21.9	52.1	3.1	83 $\pm$ 20%
103	74.5	2.4	11.8	5.08	3.56	1069	106	56	1.047	< 200	4.0	17.1	16.4	51.3	2.8	100 $\pm$ 20%
104	73.4	2.6	11.8	3.13	4.08	1106	140	64	1.047	< 200	5.0	11.1	15.3	38.3	2.6	107 $\pm$ 20%
105	67.2	2.3	11.6	4.20	4.7	1009	88	48	1.045	< 200	5.0	9.4	17	47.4	2.4	94 $\pm$ 20%
106	83.7	3.4	11.7	2.81	4.81	1154	49	40	1.045	< 200	5.3	8.2	20.7	53.2	2.8	93 $\pm$ 20%
107	65.7	2.2	11.7	5.89	3.9	850	54	37	1.046	206	4.4	12.7	15.2	42.3	2.4	86 $\pm$ 20%
108	63.6	2.3	11.7	4.43	4.48	1038	71	43	1.047	275	5.0	14.3	15.6	45.7	3.3	89 $\pm$ 20%
109	64.8	2.3	11.3	4.41	4.82	1014	72	48	1.045	< 200	5.3	21	21	63.5	4.6	96 $\pm$ 20%
110	57.9	2.5	11.3	5.10	4.6	894	40	35	1.045	< 200	5.0	15	24.3	63.7	3.8	87 $\pm$ 20%
111	66.8	2.6	11.5	4.47	4.9	1088	70	43	1.048	< 200	4.4	20.1	21.5	62.5	3.4	96 $\pm$ 20%
201	81.0	1.7	10.3	3.75	2.44	938	51	33	1.047	< 200	2.6	4.3	23.7	65.8	4.4	84 $\pm$ 20%
202	58.8	2.1	12.7	5.08	3.44	1048	32	32	1.049	< 200	5.0	11.5	27.4	74.3	3.3	86 $\pm$ 20%
203	66.6	3.7	11.4	5.84	3.56	1026	36	29	1.046	< 200	4.3	11	26.3	65.9	4.9	93 $\pm$ 20%
204	76.1	1.8	11.4	5.89	2.6	935	73	42	1.047	< 200	2.4	16.2	24.1	66.5	4.1	92 $\pm$ 20%
205	99.6	2.7	13.5	4.81	5.91	1402	53	50	1.055	< 200	7.0	28.5	24.3	73.3	3.5	107 $\pm$ 20%
301	66.0	2.6	11.6	4.43	3.41	1017	128	47	1.045	< 200	3.8	22.3	22.9	63	3.9	99 $\pm$ 20%
302	68.3	2.2	11.9	4.43	4.58	980	129	48	1.046	< 200	4.3	18.4	22.3	63.6	3.5	100 $\pm$ 20%
303	66.8	2.0	11.6	4.73	5.01	996	92	54	1.042	< 200	4.1	19.5	21.3	63.3	4.6	97 $\pm$ 20%
304	82.9	2.5	11.4	4.20	4.97	1217	105	55	1.047	< 200	4.8	15.6	22	61.5	3.2	105 $\pm$ 20%
305	87.4	3.4	12.7	2.59	4.81	1051	48	39	1.044	< 200	4.8	9.5	25.2	65.7	4.1	93 $\pm$ 20%
306	73.7	2.6	13.6	4.70	5.26	951	99	46	1.043	< 200	4.7	18.6	20.7	60.6	3.3	102 $\pm$ 20%
307	69.9	2.0	11.2	5.04	3.58	923	103	37	1.047	< 200	3.3	25.4	20	57.6	3	94 $\pm$ 20%
308	67.5	2.7	11.6	6.57	4.19	1091	117	56	1.047	< 200	4.2	8	27.6	53.9	3.7	107 $\pm$ 20%
309	71.0	2.4	11.3	4.22	5.13	1133	114	59	1.047	< 200	4.3	16.5	21.4	63.6	3.7	104 $\pm$ 20%
310	71.0	2.5	12.7	4.23	4.56	1070	141	55	1.048	< 200	4.3	19.8	20.8	60.6	3.6	108 $\pm$ 20%
311	74.8	2.4	12.5	4.73	5.14	1213	54	53	1.047	< 200	4.2	16.1	21	62	3.1	97 $\pm$ 20%
312	74.0	2.1	11.3	2.60	2.42	1071	105	56	1.050	< 200	4.5	20.6	19.9	59.9	3.4	97 $\pm$ 20%

The quality of the analyzed apple juices was further assessed by SPME GC/MS technique taking into considering that many factors affect the aroma of apple juice including variety, climate, harvesting, storage conditions and the processing techniques. The results showed that About 36 %

of assessed sample showed insufficient aroma restoration (See Fig 2 and 3) which was proved by GC MS aroma profile determination presented by the following compounds (2-methyl-1-butanol (active amyl alcohol), ethyl butyrate, hexanal, butyl acetate, 2-hexenal, 1-hexanol, 2-methyl butyl acetate and hexyl acetate) and aroma index.

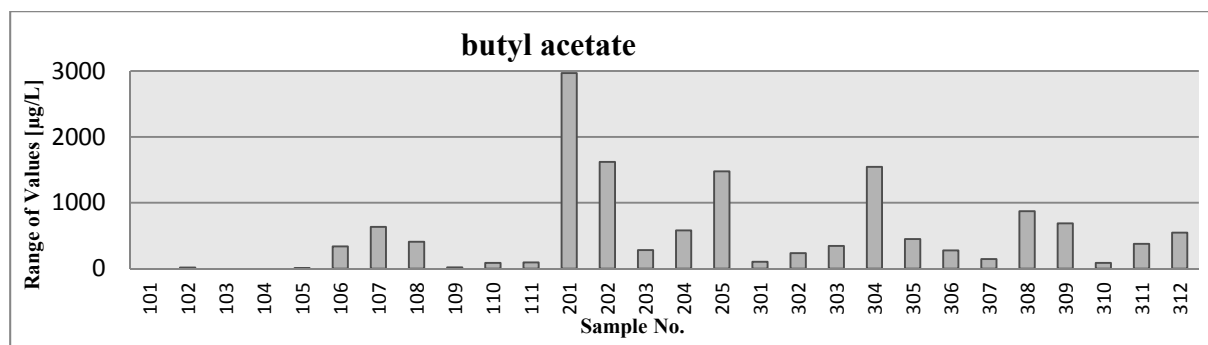


Figure 1 Comparison between butyl acetate concentrations obtained by SPME GC/MS measurement for apple juice samples

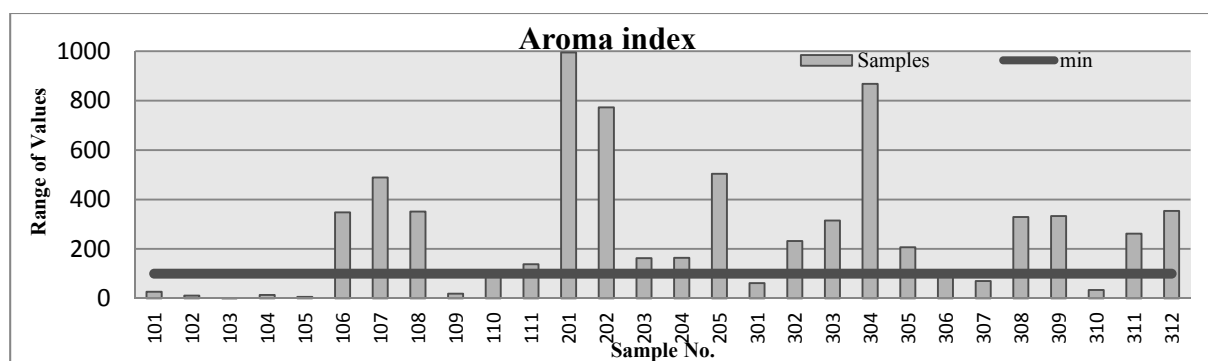


Figure 2 Comparison between Aroma indices obtained by SPME GC/MS measurement for apple juice samples

In a subsequent step for quality evaluation, A DART TOF MS measurement was carried out. The measurement was carried out in both the positive and the negative mode which enabled the profiling of measured samples mainly on the basis of the phenolic content. The DART TOF MS mass spectrum especially in the negative mode was more abundant and for both spectrum obtained after the positive and the negative measurement, many m/z ratio were elucidated and assigned to their correspondent compounds based on chemical calculation and literature comparison, (See table 2).

Table 2 Overview of calculated and Experimental masses identified by DART TOF-MS measurement of apple juice samples

Compound	Ion assignment	Elemental composition	Theoretical mass (m/z)	Experimental mass (m/z)
Hexose	$[M]^+$	$C_6H_{12}O_6$	180.0628	180.0999
Hexose	$[M+NH_4]^+$	$C_6H_{12}O_6$	198.0972	198.0974
Hexose	$[2M+H]^+$	$C_6H_{12}O_6$	378.1949	378.1659
Fumaric acid	$[M-H]^-$	$C_4H_4O_4$	115.0037	115.0068
Malic acid	$[M-H]^-$	$C_4H_6O_5$	133.0142	133.0368
Hexose	$[M-H]^-$	$C_6H_{12}O_6$	179.0561	179.0546
Ermanin	$[M-H]^-$	$C_{17}H_{14}O_6$	313.0718	313.1511
Phloridzin	$[M-H]^-$	$C_{21}H_{24}O_{10}$	435.1297	435.1761

DART TOF MS data were further processed for the purpose of fingerprinting. The data were processed using the proper statistical software. And the principal component analysis was performed on the complete TIC mass spectra. The analysis showed insufficient separation of the analyzed samples based on their processing (i.e. direct juices and juice from concentrate), but on

the other hand, the analysis showed the potential for implementation in rapid screening for adulteration detection due to the decrease in the abundances of the main constituents of the adulterated samples mass spectrum, (See Fig3, a and b).

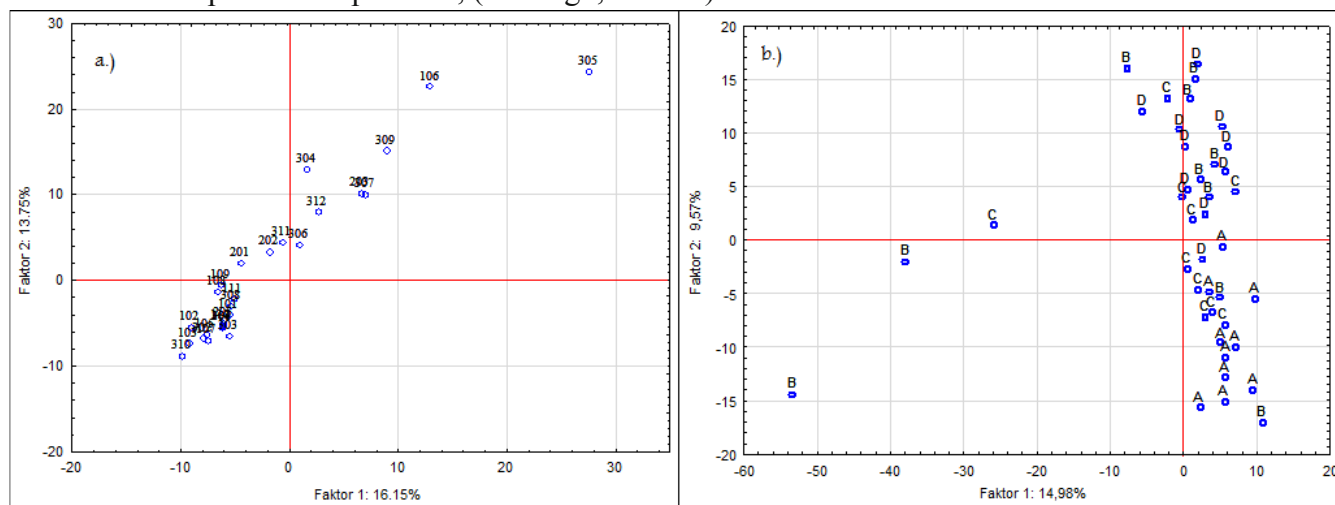


Figure 3 Principle Component Analysis (scatter plot) of a.) DART TOF-MS data of direct apple juices and apple juices from concentrate b.) DART TOF-MS data of original and falsified apple juices (A: original juice, B: falsified with 50% water, C: falsified with 50% saccharides and acids solution and D: falsified with 70 % aforementioned solution)

CONCLUSIONS

- The evaporation during the concentration process, the thermal treatment and aroma restoration step are critical factors that may contribute to aroma loss or deterioration. Although there is no related legislation to this matter but some manufacturers have to give it the proper attention.
- Phenolic profiles are among the most established approaches used for apple juice quality evaluation; DART TOF-MS employment gives the possibility to assess the phenolic profile of apple juice rapidly and without sample preparation.
- The implementation of DART TOF-MS mass spectrums, especially of the negative ionization mode for statistical evaluation of original and falsified apple juice has the potential for rapid discrimination purposes of adulteration or improper processing.

ACKNOWLEDGMENT

Financial support was secured from specific university research (MSMT No 20/2015): A1_FPBT_2015_002

REFERENCES

1. European Commission Directive 2012/12/EU amending Commission Directive 2001/112/EC relating to fruit juices and certain similar products intended to human consumption. Official Journal of the European Communities, L 115/1.
2. Fűgel, R., Carle, R., Schieber, A. Quality and authenticity control of fruit purées, fruit preparations and jams - a review. Trends in Food Science & Technology. 2005, 16, 433-441.
3. Wolter, C. – Gessler, A. – Winterhalter, P.: Evaluation of apple juice aroma. In: Da Costa, N. C. – Cannon, R. J.: Flavors in noncarbonated beverages. Vol. 1036. Washington, DC : American Chemical Society, 2010, pp. 103–114.
4. Nikfardjam, M.; Maier, D. Development of a headspace trap HRGC/MS method for the assessment of the relevance of certain aroma compounds on the sensorial characteristics of commercial apple juice. Food Chem. 2011, 126, 1926–1933.
5. Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., Rege, D. V., Eds. Handbook of indices of food quality and authenticity.; Woodhead Publishing., 1997.
6. Cifuentes, A., Ed. Foodomics: Advanced Mass Spectrometry in Modern Food Science and Nutrition; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2013.
7. Gan, H.; Soukoulis, Ch.; Fisk, I. Atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry analysis linked with chemometrics for food classification – A case study: Geographical provenance and cultivar classification of monovarietal clarified apple juices. Food Chem. 2014, 146, 149–156.
8. R.B. Cody, A.J. Dane. Direct analysis in real time ion source. In Encyclopedia of Analytical Chemistry, RA Meyers (Ed.). John Wiley & Sons: Larkspur, CA, Publication Date (Web): 15 December 2010.

P 5

POSOUZENÍ KVALITATIVNÍCH PARAMETRŮ 100% ŠŤÁV Z KUSTOVNICE CIZÍ

Grégrová A., Kružík V., Kovařík F., Rajchl A., Čížková H.
Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Kustovnice cizí, *Lycium barbarum* (syn *L. halimifolium* Miller; *Gouqi* či *Ningxiagouqi*), stejně jako jí velmi podobný druh, Kustovnice čínská (*Lycium chinense* Miller; *Gouqi*), je využívána jako tradiční potravina i lék s dlouhou historií a tradicí v asijských zemích, zejména pak v Číně. Oba druhy pochází z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*). Od počátku 21. století se staly plody kustovnice populárními pod komerčním názvem *Goji* (anglicky *boxthorn* či *wolfberry*) také v Evropě a Severní Americe. Plody kustovnice obsahují řadu biologicky aktivních látek (např. karotenoidy, flavonoidy, vitamíny, minerály) a jsou konzumovány ve formě čerstvých či sušených plodů, šťávy nebo jako součást řady pokrmů, např. polévek, rýže, masa či zeleniny.

Kustovnice cizí je opadavý, trnitý keř 1,5-2,5 m vysoký, s převislými větvemi. Plody jsou protáhlé vejcovité, 1-2 cm dlouhé červené bobule (Obr. 1).

Plody *Goji* obsahují velké množství běžných i méně běžných látek s potenciálně léčivými účinky; za nejdůležitější jsou považovány specifické polysacharidy:

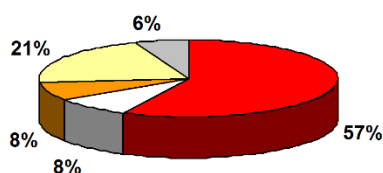
- ***Lycium barbarum* polysacharidy (LBP)** – unikátní skupina polysacharidů a proteoglykanů (proteinů s kovalentně navázanými polysacharidy,
- karotenoidy – velké množství (až 0,5%), množství roste v průběhu zrání, v dobře dostupné formě; většinu tvoří zeaxantin dipalmitát (physalin, physalien), přítomny jsou také další formy zeaxantinu, lutein, β -karoten, β -kryptoxantin a další,
- flavonoidy – izolován byl quercetin, myricetin, kamferol,
- vitamíny – kromě provitaminu A například kyselina nikotinová (vitamín B3), riboflavin (vitamín B2), thiamin (vitamín B1), tokoferoly (vit. E), kyselina askorbová (vitamin C),
- minerály – významně obsažené jsou například vápník, fosfor a železo, stopově selen, germanium, měď, zinek a jiné,
- mastné kyseliny a silice – v plodech kustovnice se nacházejí kyselina palmitová, olejová a linolová,
- volné aminokyseliny – obsaženy v poměrně velkém množství (1-2,7 %), nejvíce prolin; zastoupeny jsou také nebílkovinné aminokyseliny, např. betain (trimethylglycin), taurin a kyselina γ -aminomáselná (GABA),
- další zajímavé látky – například β -sitosterol, daukosterol, skopoletin, kyselina p-kumarová a derivát dopaminu lyciumid A, dosud izolován pouze z *Goji*.

U *Goji* produktů prodávaných mimo Asii (Obr. 2), z nichž nejvýznamnější jsou sušené plody, je obtížné rozlišit plody Kustovnice cizí a Kustovnice čínské od ostatních druhů a odrůd. Náhrada či falšování komerčních výrobků tedy není vyloučena. Známý jsou i další odrůdy a příbuzné druhy, jako například *L. barbarum* var. *aurantiocarpum* (*Huangguogouqi*), *L. chinense* var. *potaninii* (*Beifanggouqi*), *L. ruthenicum* (*Heiguogouqi*) a *L. truncatum* (*Jieegouqi*), které se mohou objevit na trhu jako adulteranty, díky své nižší ceně.

Cílem této studie bylo zhodnocení kvality 100% ovocných šťáv *Goji* se zaměřením na odhad ovocného podílu, správnost nutričního značení a přítomnost aditivních látek ve výrobcích (konzervačních látek, antioxidantů a zahušťovadel).



Obr. 1 Kustovnice cizí (*Lycium barbarum*; zdroj: <http://www.botanickafotogalerie.cz/>)



■ Sušené plody □ Čaje ■ Šťávy ■ Potravinové doplňky ■ Kosmetika

Obr. 2 Průzkum trhu: produkty dostupné na českém trhu (deklarace: Kustovnice čínská, *Goji*)

MATERIÁL A METODY

Byly posuzovány kvalitativní parametry dvou vzorků 100% šťáv z kustovnice cizí (*Lycium barbarum*; *Ningxia*; Obr. 3; Tab. 1).

Zhodnocení ovocného podílu bylo provedeno na základě srovnání dat z literatury s naměřenými hodnotami vybraných markerů. Pro výpočet ovocného podílu byly použity tyto parametry: refraktometrická sušina měřená digitálním refraktometrem; obsah kyselin (jablečná a citronová) a obsah cukrů (glukosa a fruktosa) byl stanoven pomocí HPLC/UV, respektive HPLC/RI; formolové číslo bylo zjištěno titračně; draslík, hořčík a vápník byly analyzovány izotachoforeticky; obsah popela a fosforu byl určen gravimetricky, respektive spektrofotometricky.

Dále byly analyzovány následující kvalitativní parametry: konzervační látky (kyselina sorbová a benzoová) byly stanoveny metodou HPLC/UV; stanovení tuku bylo provedeno na Soxhletově extrakčním přístroji; zastoupení mastných kyselin bylo stanoveno metodou GC/MS; bílkoviny byly stanoveny Kjeldahlovou metodou; sodík (pro výpočet obsahu soli) byl stanoven metodou OES-ICP; obsah škrobu byl stanoven polarimetricky; obsah vody byl stanoven sušením do konstantní hmotnosti při 105 °C; titrační kyselost byla stanovena titračně; obsah vitamínu C byl analyzován metodou HPLC/UV.



Obr. 3 Analyzované vzorky

Tab. 1 Označení a specifikace analyzovaných vzorků

Vzorky	Dovozce/ prodejce	Popis	Podíl ovoce	Složení	Deklarované výživové hodnoty (ve 100 ml)	Minimální trvanlivost do/šarže
1	ALBIXON a.s. - Divize zdravé výživy,	HIMALYO 100% GOJI JUICE, <i>Lycium barbarum</i> , GOJI Original Ningxia; Čína -	100% ovocná šťáva	100% Goji přírodní džus je neupravená, živá tekutina bez jakýchkoliv přídavných látek a	energetická hodnota 65 kcal/275 kJ, tuky 0,13 g, nasycené mastné kyseliny 0,06 g, sacharidy 12,5 g, cukry 11,97 g, bílkoviny 2,7 g, sůl	30 9 2015

	Praha 5	provinice Ningxia		ingrediencí	0,11 g, ORAC 59 930 mole TE	
2	MEDICOL UX Europe, s.r.o., Czech republic	RAMISSIO 100 % GOJI Ningxia, Essence of Life; vyrobeno v Číně	100% ovocná šťáva	100% Goji ovocná šťáva	energetická hodnota 53,4 kcal/224 kJ, bílkoviny 0,02 g, tuky 0,2 g, sacharidy 10,8 g, vápník 56 mg, hořčík 11,4 mg, železo 0,75 mg, vitamin A 1,32 mg, vitamin C 16,6 mg	Nov. 2015

VÝSLEDKY A DISKUSE

Postup identifikace falšování a odhad ovocného podílu vychází z analýzy vybraných kritérií, chemických markerů přítomnosti konkrétních ovocných druhů, jejichž hodnoty se porovnávají s existujícími databázemi autentických výrobků. Pro výpočet ovocného podílu byly použity tyto parametry: refraktometrická sušina, kyselina jablečná a citronová, glukosa, fruktosa, formolové číslo, draslík, hořčík, vápník, popel a fosfor.

Ovocný podíl obou vzorků (Tab. 2) vyšel jako vyhovující, tj. splňující požadavky na označení jako 100% šťáva. Vzorek č. 1 obsahoval více látek typických pro ovoce (minerálů, cukrů a kyselin), avšak důvodem mohla být např. přirozená variabilita vlastního ovoce či zpracování zralějších plodů.

V souladu s deklarací nebyly nalezeny žádné aditivní látky (Tab. 3); ani konzervační látky (kyselina benzoová a sorbová), ani okyselující složky (stanoveno jako titrační kyselost), ani zahušťovadla na bázi škrobu – zjištěný obsah škrobu odpovídal přirozeným hodnotám. Zastoupení minerálních látek (vápník, draslík) nevypovídalo o použití dalších aditiv (u těch se často jedná o soli s těmito prvky).

Výživové údaje, tj. energetická hodnota, tuky, sacharidy, bílkoviny, sůl a obsah vitamínu C (Tab. 4) odpovídaly deklaraci na obalu produktů (odchyly byly v souladu s pravidly SZPI viz Pokyny pro příslušné orgány pověřené kontrolou shody s právními předpisy EU k nařízení (EU) č. 1169/2011 s ohledem na stanovení přípustných odchylek od nutričních hodnot uvedených na etiketě). Hodnoty pro vitamin C jsou v ovoci jako takovém velmi variabilní. Nalezené hodnoty mohou být nižší i s ohledem na postup zpracování výrobků (tepelný záhřev během pasterace).

Tab. 2 Stanovení skutečného podílu ovoce (<L.D. = pod limitem detekce)

Parametr	Jednotky	1	2
Refraktometrická sušina	%	15,86	12,66
Draslík	mg/kg	2850	2280
Hořčík	mg/kg	108	80
Sorbitol	g/100g	<L.D.	<L.D.
Glukosa	g/100g	48,7	40,8
Fruktosa	g/100g	51,9	44,9
Sacharosa	g/100g	<L.D.	<L.D.
Vápník	mg/kg	156	103
Fosfor	mg/kg	298,04	259,02
Popel	g/kg	8,34	6,19
Kyselina jablečná	g/kg	0,661	0,417
Kyselina citronová	g/kg	9,391	6,731
Formolové číslo	ml 0,1M NaOH/100 g	76,35	73,31
Obsah vody	g/100 g	83,1	86,0
Podíl ovoce	g ovoce /100 g výrobku	98$\pm$30%	75$\pm$30%

Tab. 3 Průkaz aditiv (<L.D. = pod limitem detekce)

Hledisko	Parametr	Jednotky	1	2	Hodnocení
Průkaz přídavku zahušťovadel	Škrob	g/100 g	1,04	0,87	neprokázáno
Průkaz přídavku okyselující složky	Titrační kyselost	g kyseliny citronové/kg	6,95	5,14	neprokázáno
Průkaz přídavku konzervačních látek	Kyselina benzoová	mg/kg	<L.D.	<L.D.	neprokázáno
	Kyselina sorbová	mg/kg	<L.D.	<L.D.	neprokázáno

Tab. 4 Výživové údaje

Výživové údaje	1 (g/100 g)	2 (g/100 g)	Srovnání s dostupnou literaturou
Energetická hodnota (kJ)	263	226	
Tuky	0,10	0,15	0,06-1,15 g/100 g plodů
z toho nasycené mastné kyseliny	0,05	0,07	
Sacharidy	13,6	10,8	3,6-9,5 g/100 g plodů
z toho cukry	10,1	8,6	
Bílkoviny	2,5	2,6	0,8-2,2 g/100 g plodů
Sůl	0,18	0,13	
Vitamin C (mg/l)	91,1	166,2	299,2-489,4 mg/kg plodů

ZÁVĚR

Goji produkty prodávané mimo Asii obsahují dle prodejců/dodavatelů nejčastěji plody *L. chinense* a *L. barbarum*. Nicméně rozlišit jejich plody mezi sebou a od ostatních druhů a odrůd je velmi obtížné a náhrada či falšování komerčních výrobků nemůže být vyloučena.

Ovocný podíl obou vzorků byl vzhledem k chybě stanovení posouzen jako vyhovující, tj. splňující požadavky na označení jako 100% šťáva. Výrobky odpovídaly svým složením deklaraci na obalu a byly prokázány jako autentické.

Ve vztahu k těmto produktům vyvstává také problém s jejich marketingem: špatně uvedená zdravotní tvrzení a chybné zařazování těchto výrobků mezi tzv. „super potraviny“, přestože vědecké závěry hodnocení výživového a zdravotního účinku nejsou zcela průkazné a jednoznačné.

PODĚKOVÁNÍ

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015): A1_FPBT_2015_002.

POUŽITÁ LITERATURA

- Potterat O: *Planta Med* 2010; 76: 7–19.
 Sze SCW et al.: *Biotechnol Appl Biochem* 2008; 5: 15–21.
 Zhang KYB et al.: *Planta Med* 2001; 67: 379–381.
 Qian JY et al.: *Food Chemistry* 2004; 87: 283–288.
 Istrati D et al.: *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI* 2013; 37: p 100.
 Zheng GQ et al.: *Biochemical Systematics and Ecology* 2010; 38: 275–284.
 Ionica ME et al.: *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment* 2012; 3: 121–129.
 Donno D et al.: *Journal of Functional Foods* 2014; In Press.
 Vyhláška č. 450/2004 Sb., o označování výživové hodnoty potravin.
 Nařízení č. 1169/2011, o poskytování informací o potravinách spotřebitelům.
 Pokyny pro příslušné orgány pověřené kontrolou shody s právními předpisy EU k nařízení (EU) č. 1169/2011 s ohledem na stanovení přípustných odchylek od nutričních hodnot uvedených na etiketě.
 Michalcová D. (2013): Botanická fotogalerie a další pomůcky k určování rostlin. Živa 1/2013: XI-XII.pdf.
http://ec.europa.eu/food/food/labellingnutrition/claims/community_register/nutrition_claims_en.htm.
<http://adaptogeny.cz/plantae/lycium/obsahove-latky-plodu-kustovnice-goji-1350.aspx>.
 Gross PM et al.: *Wolfberry. Nature's Bounty of Nutrition & Health*. 1st ed.: BookSurge Publishing, 2006. 260 p. ISBN 1-4196-2048-7.
 Young G et al.: *Ningxia Wolfberry: The Ultimate superfood*. 2nd ed. Orem: Essential Science Publishing, 2006. 266 p. ISBN 0-943685-46-X.

P 6

VYUŽITÍ TECHNIKY DART/TOF-MS PRO HODNOCENÍ KVALITY A AUTENTICITY BYLINNÝCH ČAJŮ

Prechalová J., Kovařík F., Radošská V., Rajchl A.

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 aromatické a léčivé byliny, které se používají čerstvé, sušené nebo jinak průmyslově zpracované. V případě farmaceutického a kosmetického průmyslu jsou z bylin extrahovány účinné látky, v případě potravinářského průmyslu se byliny zpracovávají na koření, likéry, sirupy apod. Nejrozšířenější použití bylin je v podobě bylinných čajů, které patří k tradičním nápojům po celém světě.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, silice, apod. Kvalita bylinných čajů je určena zejména přítomností fenolových a terpenických sloučenin, které jsou většinou součástí silic, přičemž tyto látky působí pozitivně na lidský organismus.³ Pro kvalitu bylinných čajů je velmi důležitá jejich zdravotní nezávadnost, která často souvisí s podmínkami pěstování, zpracování (sušení, třídění) a skladování. Obsah a zastoupení účinných látek v bylinných čajích je velmi variabilní v závislosti na druhu byliny, geografickém původu, a způsobu jejich zpracování. Byliny a výrobky z nich mohou být také předmětem falšování. Byliny a bylinné čaje mohou být falšovány několika způsoby, jako je chybné označení botanického druhu byliny, přidavkem nedeclarovaného bylinného druhu apod.⁴

V současné době je k dispozici mnoho metod pro hodnocení kvality bylinných čajů, např. separační techniky (CE, GC, HPLC), imunochemické metody (PCR, ELISA), tyto techniky jsou ovšem často časově náročné.⁵ Vhodnou alternativou těchto metod může být technika DART (Direct Analysis in Real Time). Technika DART je v současnosti nejmladší komerčně dostupnou ambientní ionizační technikou hmotnostní spektrometrie. Pomocí této techniky lze analyzovat plyny, kapaliny a pevné látky bez složitějších úprav vzorků. Výhodou techniky DART/TOF-MS je zejména krátká doba analýzy.

Vzorky

Analyzovány byly tyto jednodruhové bylinné čaje (viz Obr. č. 1): heřmánek (*Matricaria chamomila* L.), fenykl (*Foeniculum vulgare* L.), kopřiva (*Urtica dioica* L.), lípa (*Flos tiliae* L.), máta (*Mentha piperita* 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 tržní síti.



Obr. č. 1 - Analyzované vzorky jednodruhových bylinných čajů

Botanická klasifikace bylin pro analyzované jednodruhov $\acute{e}$ bylinn $\acute{e}$ $\acute{c}$ aje je uvedena v Tab. $\acute{c}$. 1.

Bylina	Řád	Čeleď	Rod
Fenykl	<i>Apiales</i>	<i>Apiaceae</i>	<i>Foeniculum</i>
Heřmánek	<i>Asterales</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Matricaria</i>
Kopřiva	<i>Rosales</i>	<i>Urticaceae</i>	<i>Urtica</i>
Lípa	<i>Malvales</i>	<i>Malvaceae</i>	<i>Tilia</i>
Máta	<i>Lamiales</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Mentha</i>
Meduňka	<i>Lamiales</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Melissa</i>
Měsíček	<i>Asterales</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Calendula</i>
Šalvěj	<i>Lamiales</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Salvia</i>
Šípek	<i>Rosales</i>	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosa</i>
Třezalka	<i>Malpighiales</i>	<i>Hypericaceae</i>	<i>Hypericum</i>

Tab. $\acute{c}$. 1 - Botanická klasifikace bylin

Příprava vzorků bylinných čajů pro metodu DART/TOF-MS

Bylo naváženo 0,5 g jednodruhov $\acute{e}$ ho bylinn $\acute{e}$ ho $\acute{c}$ aje, který byl homogenizován s 3 ml methanolu pomocí laboratorního mix $\acute{e}$ ru (ultra-torraxu). Takto p $\acute{r}$ ipraven $\acute{e}$ vzorky byly použit $\acute{y}$ pro kvalitativní analýzu metodou DART/TOF-MS.

Nastavení parametrů DART/TOF-MS systému pro analýzu vzorků

Nastavení parametrů DART/TOF-MS p $\acute{r}$ i analýze bylinných čajů bylo následující (uvedeno v Tab. $\acute{c}$. 2).

Parametr	Nastavení
Ionizační mód	pozitivní - negativní
Průtok hélia	3,5 l/min
Teplota plynu hélia	350 °C
Napětí na výbojové jehle	3000 V
Napětí na mřížce	350 V
Napětí na skimmeru	65 V
Napětí na fragmentoru	175 V
Hmotnostní rozsah m/z	50 - 1500

Tab. $\acute{c}$. 2 - Nastavení parametrů DART/TOF-MS

Cíle práce

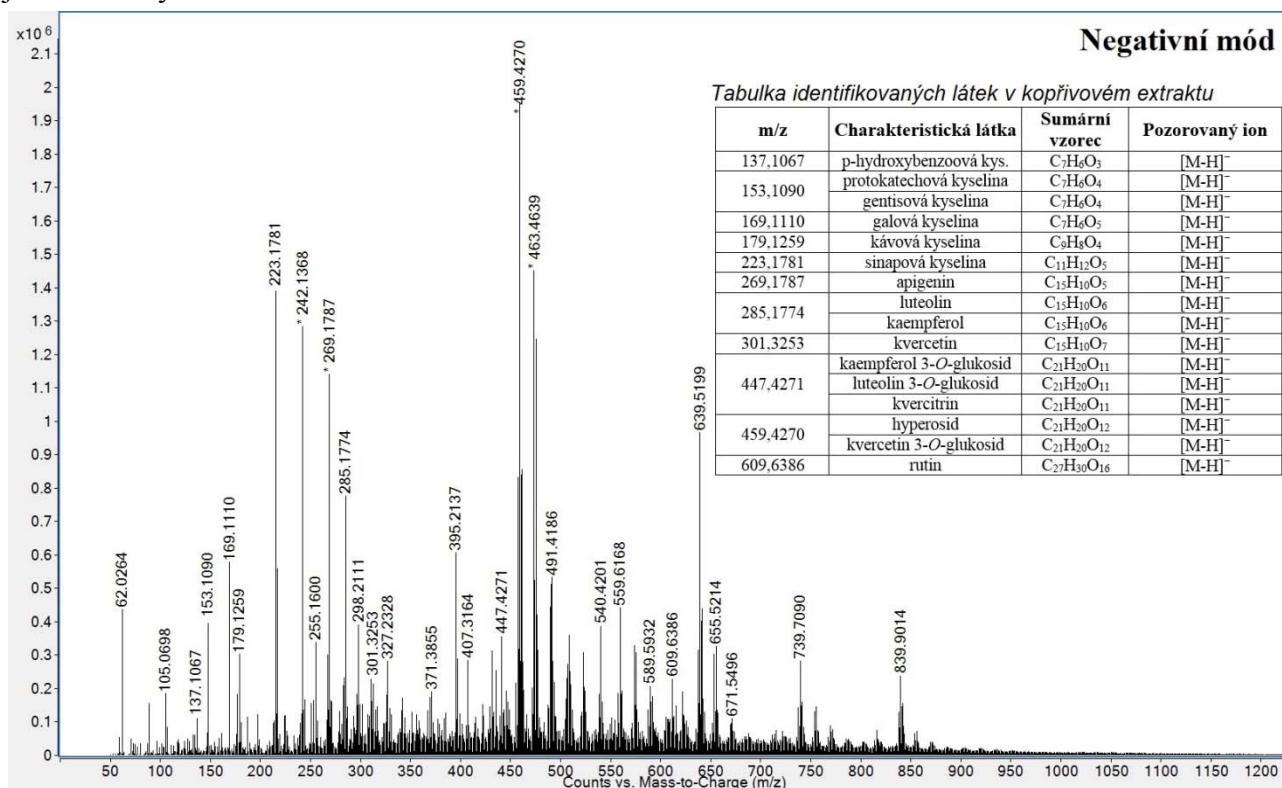
Technika DART/TOF-MS byla použita pro rychlý screening jednodruhov $\acute{y}$ ch bylinných čajů za účelem ov $\acute{e}$ ření vhodnosti techniky DART/TOF-MS pro posouzení autentičnosti bylinných čajů a srovnání obsahu účinných látek v nich obsažených. Získané fingerprinty byly statisticky zpracovány klastrovou analýzou (CA).

Výsledky a diskuze

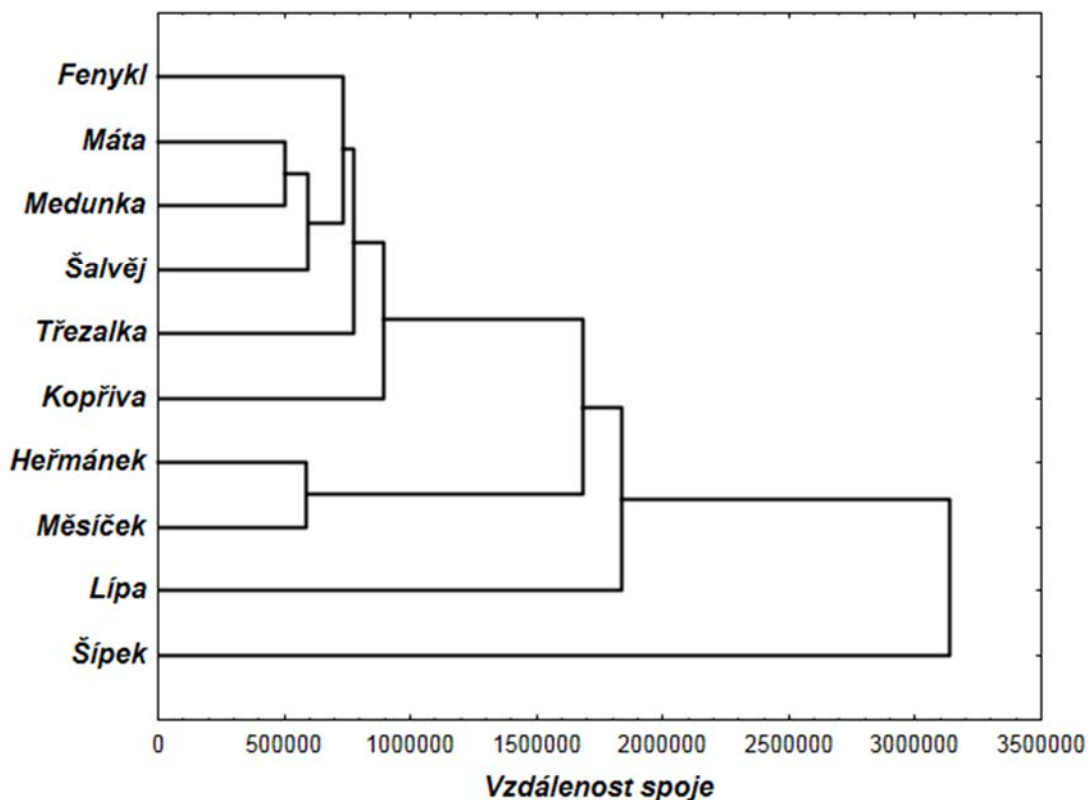
Technika DART/TOF-MS byla použita pro rychlý screening analyzovaných jednodruhov $\acute{y}$ ch bylinných čajů. optimalizovány byly následující parametry: měřící mód, ionizační teplota a způsob extrakcevo. Jednodruhov $\acute{e}$ bylinn $\acute{e}$ $\acute{c}$ aje byly proměřeny v pozitivním i negativním módu. V obou

módech byly pozorovány dostatečné intenzity charakteristických iontů. U jednodruhových bylinných čajů byla optimální teplota ionizace 350 °C.

Na Obr. č. 2. je uvedena ukázka hmotnostního spektra sušené kopřivy. Identifikované látky jsou uvedeny v tabulce.



Obr. č. 2 - Hmotnostní spektrum (negativní mód, ionizační teplota 350 °C) kopřivového extraktu



Obr. č. 3 - Klastrová analýza hmotnostních spekter jednodruhových bylinných čajů

Hmotnostních spektra jednodruhových bylinných čajů byla statisticky zpracována klastrovou analýzou, kdy došlo ke shlukování podle taxonomické příbuznosti (viz Obr. č. 3).

Z obrázku č. 3 je patrné, že v klastrové analýze vytvořila samostatnou skupinu máta-meduňka-šalvěj a heřmánek-měsíček. Tyto byliny patří do stejného řádu/čeledě, což ukazuje na to, že v rámci jednoho řádu/čeledě (viz Tab. č. 1) lze očekávat obdobné charakteristické látky obsažených v bylinách. Také se ukázalo, že šípek je „nejvzdálenějším“ objektem od ostatních, jeho složení je tedy výrazně odlišné od ostatních bylin. Jedním z důvodů může být to, že se jedná o plod šípku nikoliv list, květ či nať jako v předchozích analyzovaných vzorcích.

Závěr

Z experimentální části vyplývá, že pro analýzu jednodruhových bylinných čajů jsou optimální následující podmínky: pozitivní/negativní měřicí mód, ionizační teplota 350 °C a methanol jako extrakční činidlo. Výsledky ukazují, že technika DART/TOF-MS je vhodná pro rychlý screening účinných látek v bylinných čajích, jako jsou fenolové a terpenické sloučeniny, alkaloidy, silice aj. Bylinné čaje poskytly charakteristická hmotnostní spektra, která byla statisticky zpracována klastrovou analýzou, kdy se ukázalo, že jednodruhové bylinné čaje se shlukují podle taxonomické příbuznosti použitých bylin.

Do budoucna by bylo možné využít techniku DART/TOF-MS za účelem ověřování kvality a autenticity bylinných čajů, a to z hlediska druhu použitých bylin, tak i účinných látek v nich obsažených.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2015): A1_FPBT_2015_002, 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.

P 7**HODNOCENÍ KVALITY A AUTENTICITY LEDOVÝCH ČAJŮ METODOU DART/TOF-MS**

Prchalová J., Čížková H., Rajchl A.

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

Úvod

Čaj je vedle vody jedním z nejpobulárnějších nealkoholických nápojů na světě, a to zejména kvůli jeho osvěžující chuti a příjemné vůni. Čaj pravý je čaj vyráběný z výhonků, lístků a pupenů čajovníku čínského *Camellia sinensis* L., který původně pochází z Asijských zemí (Čína, Japonsko, Indie a Thajsko). Na kvalitu, barvu, chuť a vůni čaje má vliv pěstování a jeho následné zpracování, jako je zavadnutí, válcování, fermentace, sušení, třídění, balení a skladování čajových lístků. V současné době existuje rozmanité množství různých druhů čajů o vysoké kvalitě, jako jsou čaje černé (fermentované), zelené (nefermentované), oolong (částečně fermentovaný), bílé, Pu-erh (vícenásobně fermentovaný) nebo i aromatizované.^{1, 2}

Všechny druhy čaje zpracované z čajovníku čínského mají rozdílné chemické složení, které má vliv na chuť a vůni čajových nápojů. Mezi nejvýznamnější složky čaje patří fenolové látky, purinové alkaloidy, lignin, pigmenty organických kyselin, theanin, volné aminokyseliny a těkavé sloučeniny. Fenolové látky obsažené v čajích mají díky své biologické aktivitě pozitivní účinky na lidské zdraví.^{1, 3, 4} Obsah a zastoupení jednotlivých látek v čajích se velmi liší v závislosti s podmínkami pěstování, zpracováním a skladováním.^{3, 4, 5}

Příspěvek se zabývá využitím techniky DART/TOF-MS pro prokazování kvality a autenticity nealkoholických nápojů na bázi čaje, tzv. ledových čajů. Mezi hlavní složky ledových čajů patří voda, čajový extrakt, cukr, umělá sladidla, antioxidanty (kyselina askorbová), konzervační látky (kyselina benzoová a sorbová) a regulátory kyselosti (kyselina citrónová).

DART (Direct Analysis in Real Time) je v současnosti nejmladší komerčně dostupnou ionizační technikou hmotnostní spektrometrie. Výhodou techniky DART/TOF-MS je krátká doba analýzy, kdy je možné získat hmotnostní spektrum v reálném čase, další výhodou je možnost analýzy i složitějších směsí bez předchozí úpravy.⁶

Vzorky

Analyzováno bylo 21 vzorků ledových čajů (10 černých a 11 zelených), které byly dostupné v obchodní síti České republiky.

Příprava vzorků ledových čajů pro metodu DART/TOF-MS

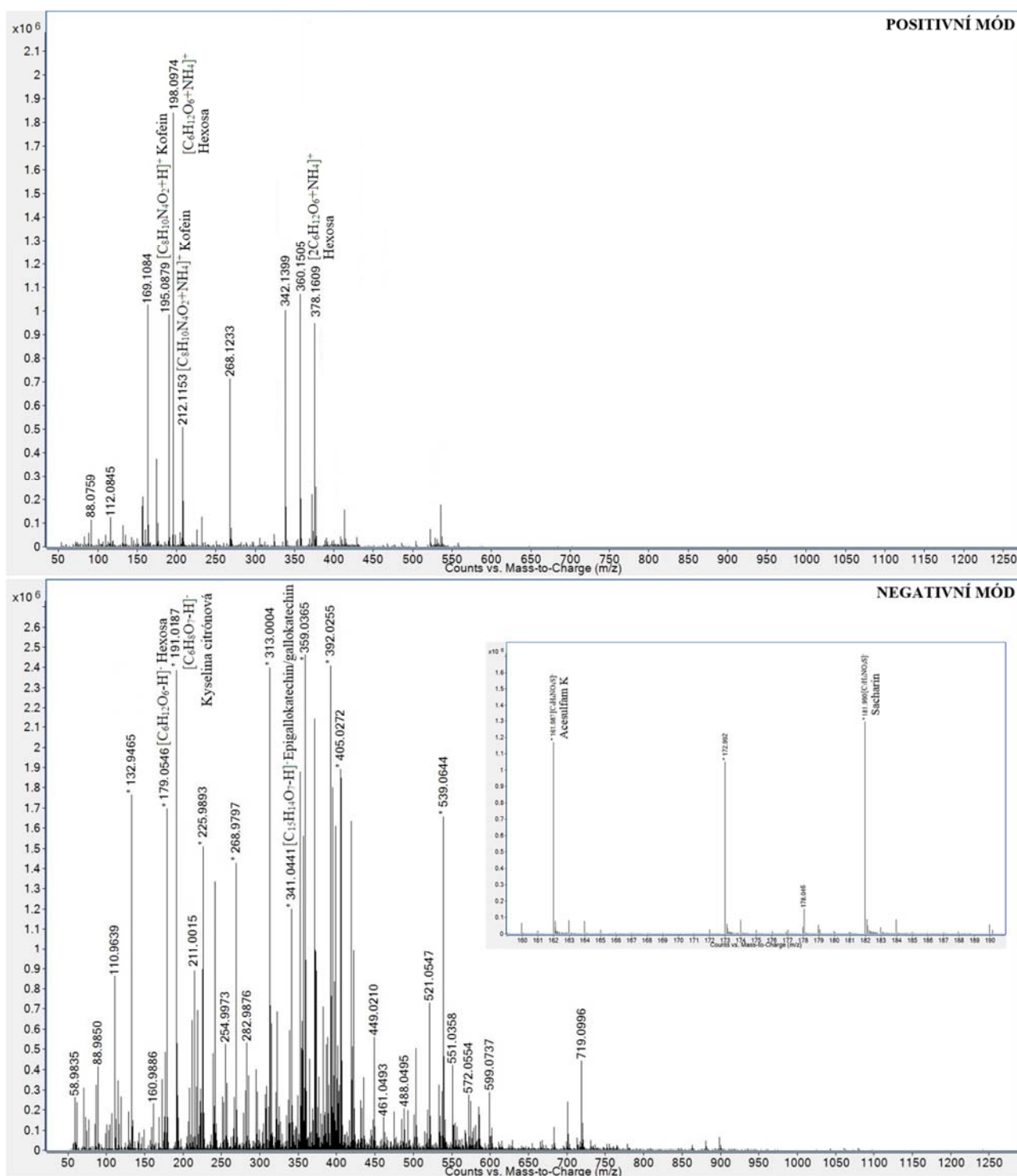
Ke kvalitativní analýze byly připraveny vzorky ledových čajů. Vzorky ledových čajů byly měřeny napřímou do iontového zdroje DART (přímá analýza v reálném čase) ve spojení s průletovým hmotnostním analyzátozem. Každý vzorek byl analyzován ve čtyřech opakováních.

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 ledových čajích. Získané fingerprinty byly statisticky zpracovány analýzou hlavních komponent (PCA).

Výsledky a diskuze

Technika DART/TOF-MS byla použita pro rychlý screening analyzovaných ledových čajů a byly optimalizovány tyto podmínky pro jejich analýzu: měřicí mód, optimální ionizační teplota. Ledové čaje byly měřeny při ionizační teplotě 300 °C v pozitivním a negativním módu, které poskytovaly bohaté spektrum obsahující charakteristické ionty příslušejících látek ledových čajů.

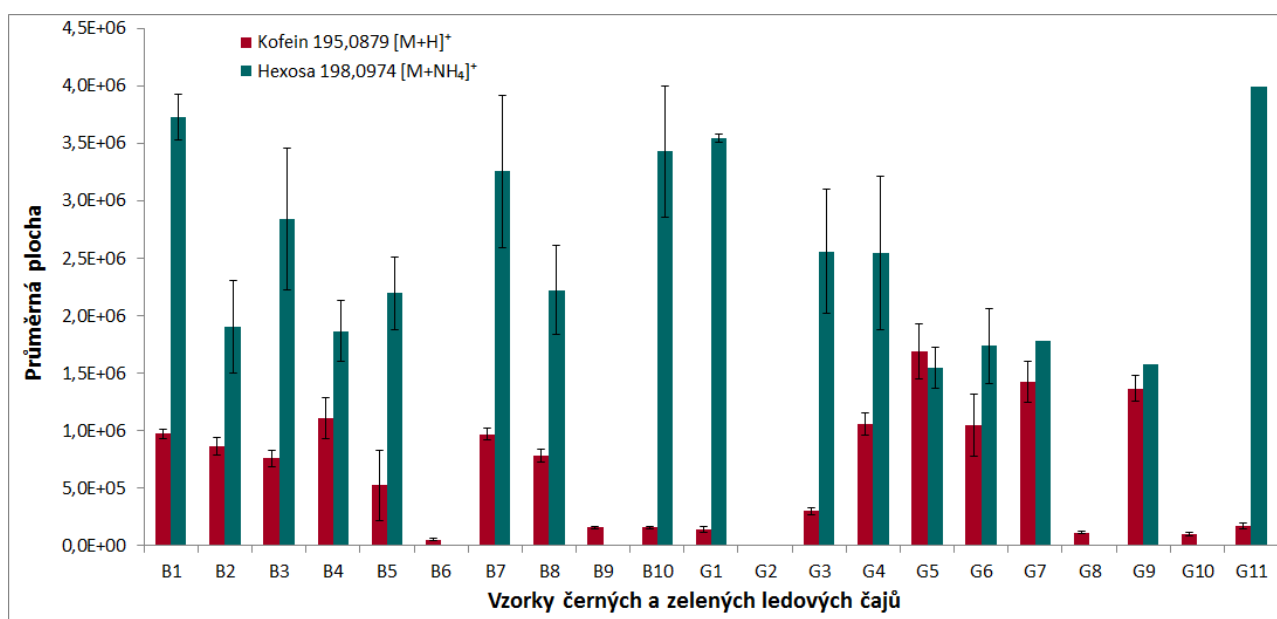


Obr. č. 1 - MS spektra: pozitivní mód - vz. B1, negativní mód - vz. B6; ionizační teplota 300 °C

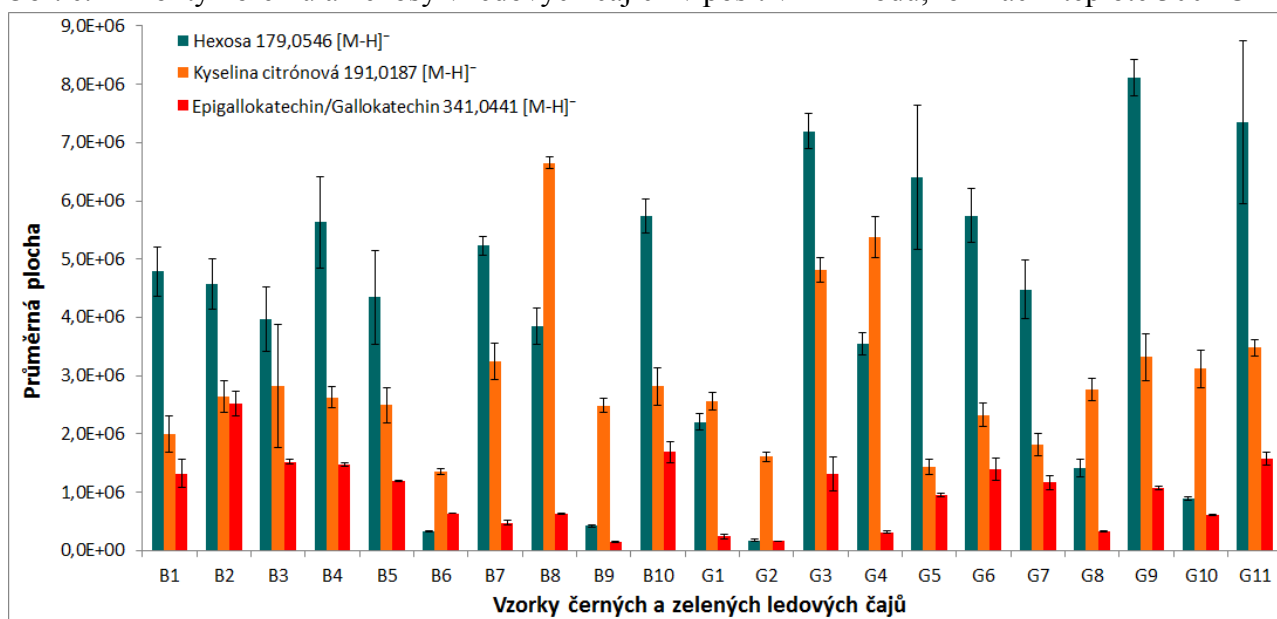
Na obrázku č. 1 jsou uvedena hmotnostní spektra pozitivního módu vzorku černého ledového čaje s označením B1 a negativního módu vzorku černého ledového čaje s označením B6 při ionizační teplotě 300 °C. V hmotnostních spektrech ledových čajů byly pozorovány ionty látek s hodnotou m/z odpovídající hexose, kofeinu, acesulfamu K, sacharinu, epigallokatechinu/gallokatechinu a kyselině benzoové a sorbové (viz Tab. č. 1). Látky nalezené v ledových čajích jsou v souladu s literaturou.⁷

Tab. č. 1: Tabulka látek identifikovaných DART/TOF-MS ve vzorcích ledových čajů

Sloučenina	Pozorovaný ion	Vzorec	Teoretická hmota (m/z)	Experimentální hmota (m/z)	Chyba (ppm)
Kofein	$[M+H]^+$	$C_8H_{10}N_4O_2$	195,0877	195,0879	+1,0
Hexosa	$[M+NH_4]^+$	$C_6H_{12}O_6$	198,0972	198,0974	+1,0
Acesulfam K	$[M]^-$	$C_4H_4NO_4S$	161,9861	161,9869	+4,9
Sacharin	$[M]^-$	$C_7H_5NO_3S$	181,9917	191,9897	-11,0
Kyselina benzoová	$[M]^-$	$C_7H_5O_2$	121,0290	121,0295	4,1
Kyselina sorbová	$[M-H]^-$	$C_6H_7O_2$	111,0446	111,0456	9,0
Kyselina citrónová	$[M-H]^-$	$C_6H_8O_7$	191,0197	191,0187	-5,2
Epigallokatechin	$[M-H]^-$	$C_{15}H_{14}O_7$	341,0434	341,0441	+2,1
Hexosa	$[M-H]^-$	$C_6H_{12}O_6$	179,0561	179,0546	-8,4



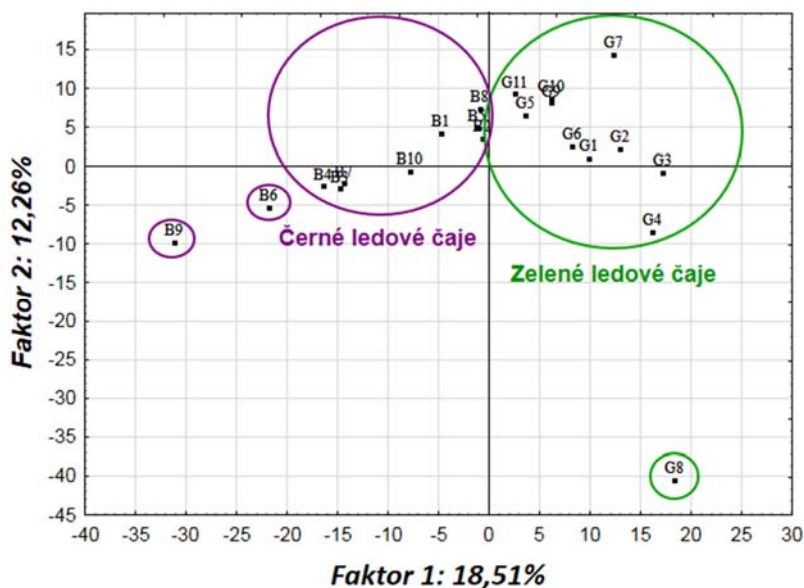
Obr. č. 2 - Ionty kofeinu a hexosy v ledových čajích v pozitivním módu, ionizační teplotě 300 °C



Obr. č. 3 - Ionty hexosy, kyseliny citrónové, epigallokatechinu/galokatechinu v ledových čajích v negativním módu, ionizační teplotě 300 °C

Na obrázku č. 2 a 3 jsou uvedeny průměrné plochy vzorků černých a zelených ledových čajů odpovídající iontům kofeinu, hexosy, kyseliny citrónové a epigallokatechinu/galokatechinu.

Získaná hmotnostní spektra černých a zelených ledových čajů byla zpracována analýzou hlavních komponent (viz Obr. č. 4).



Ze shluku černých ledových čajů byly odseparovány vzorky B6 a B9. Vzorky byly charakteristické tím, že neobsahovaly sacharidy a kofein. Dále obsahovaly pouze zanedbatelné množství epigallokatechinu a navíc umělá sladidla (acesulfamu K a sacharinu) a konzervační látky (kyselinu benzoovou a sorbovou). Odlehlým vzorkem ze zelených ledových čajů dle PCA analýzy byl vzorek G8. Vzorek G8 byl ve všech sledovaných parametrech vyhodnocen jako nejhorší a byl také smyslově atypický.

Obr. č. 4 - Analýza hlavních komponent vzorků černých a zelených ledových čajů

Závěr

Z experimentální části vyplynulo, že pro analýzu ledových čajů jsou optimální tyto podmínky: přímá analýza vzorků, pozitivní a negativní měřicí mód, ionizační teplota 300 °C.

Technika DART/TOF-MS byla použita pro rychlý screening následujících sloučenin obsažených v ledových čajích: sacharidů, kofeinu, kyseliny citronové, umělých sladidel, konzervačních a fenolových látek. Hmotnostní spektra ledových čajů byla statisticky zpracována analýzou hlavních komponent, kdy se ukázalo, že rozdíly mezi vzorky černých a zelených ledových čajů jsou statisticky významné, i přes jejich relativně velkou podobnost ve složení.

Technika DART/TOF-MS má značný potenciál pro hodnocení kvality a autenticity ledových čajů a ukázala se jako účinný nástroj pro selekci podezřelých vzorků. Tato technika také ukazuje potenciální využití pro semi-kvantitativní stanovení vybraných sloučenin ledových čajů, jako jsou kofein, konzervační látky, umělá sladidla, cukry atd.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2015): A1_FPBT_2015_002, A2_FPBT_2015_008.

Seznam použité literatury

1. Xiao, J., Huo, J., Jiang, H., Yang, F. Chemical composition and bioactivities of crude polysaccharides from tea leaves beyond their useful date. *International Journal of Biological Macromolecules* **2011**, 49, 1143-1511.
2. Crozier, A., Ashihara, H., Tomás-Barberán, F. Teas, Cocoa and Coffee – plant secondary metabolites and health. *Wiley-Blackwell UK* **2012**.
3. Lasekan, O., Lasekan, A. Flavour chemistry of mate and some common herbal teas. *Trends in Food Science & Technology* **2012**, 27, 37-46.
4. Senanayake, S.P.J.N. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *Journal of Functional Foods* **2013**, 5, 1529-1541.
5. He, X., Li, J., Zhao, W., Liu, R., Zhang, L., Kong, Xi. Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC. *Food Chemistry* **2015**, 171, 405-411.
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.

7. Cajka, T., Vaclavik, L., Riddellova, K., Hajslova, J. GC-TOF-MS and DART-TOF-MS: Challenges in the analysis of soft drinks. *LC GC Europe* **2008**, *21*, 250-256.

P 8

SENZORICKÉ HODNOCENÍ ZELENÝCH ČAJŮ

Ilko V., Hauser J., Revenco D., Panovská Z.

Ústav analýzy potravin a výživy, Technická 5, 160 23, Praha-Dejvice

Souhrn

Zelený čaj je vyroben z výhonků, listů, pupenů nebo jemných částí čajovníku *Camellia sinensis*, přičemž při výrobě nedochází k fermentaci, tj. k řadě chemických reakcí, při kterých vznikají další senzorycky aktivní látky. U čaje je velmi významná senzorycká jakost. Z organoleptických vlastností se hodnotí vzhled, barva, vůně a chuť.

V rámci senzoryckého hodnocení bylo hodnoceno 17 vzorků zelených čajů zakoupených v tržní síti. Vzorky se hodnotily před a po přípravě nálevu. Při hodnocení před zalitím se hodnotil vzhled lístků a barva. Barva lístku se hodnotila taky pomocí spektrofotometru Avantes (AVA SPEC-2048, AVA LIGHT-HAL). Výluh z čajů byl připravován podle návodu, který udávali výrobci. Při senzoryckém hodnocení výluhu čaje se hodnotila celková příjemnost barvy, intenzita barvy, celková příjemnost vůně, intenzita vůně, příjemnost hořké chuti, intenzita hořké chuti, příjemnost trpké chuti, intenzita trpké chuti, intenzita chuti po seně, listí, dřevě a intenzita rybí chuti.

Úvod

Čaj připravený výluhem horkou vodou z *Camilla sinensis* je světově druhý nejoblíbenější nápoj po vodě (Butt & Sultan, 2009). Podle způsobu výroby rozeznáváme tři základní druhy čaje: nefermentovaný (oxidovaný) zelený čaj, částečně fermentovaný oolong a fermentovaný černý čaj. Fermentace čaje je způsobena enzymatickým působením polyfenoloxidáz (PPO), které se nacházejí v čaji (Obanda, *et al.*, 2001). Zelený čaj je velmi populární v asijských krajinách. Česká vyhláška 78/2003 Sb. definuje čaj takto: čajem pravým se rozumí čaj, který je vyrobený z výhonků, listů, pupenů nebo jemných částí zdřevnatělých stonků čajovníku *Camellia sinensis* (Linnaeus) O. Kunze, popřípadě jejich kombinací.

Celková chuť zeleného čaje je složena z dílčích chutí a je to zejména hořkost, trpkost, sladkost a chuť umami (Tarachiwin *et al.*, 2007; Yu, *et al.*, 2014). V čaji se nachází několik skupin netěkavých látek, které mají vliv na profil chuti čaje. Nejvýraznější skupiny jsou fenolové sloučeniny, purinové alkaloidy, aminokyseliny, sacharidy, nukleotidy a organické kyseliny. (Liang *et al.*, 2008; Wang & Ruan, 2009). Polyfenoly nacházející se v čaji způsobují chuť hořkou a trpkou (Narukawa *et al.*, 2010). Zásadním způsobem k hořkosti v čaji přispívají purinové alkaloidy, zejména kofein. Dále se v čaji nachází chuť umami, kterou způsobují kyseliny L-glutamová a L-asparagová. Až 50% volných aminokyselin v čaji tvoří L-theanin (5-N-ethyl-L-glutamin), který vykazuje chuť sladkou a umami. Sladká chuť čajů vyskytující se v zeleném čaji a oolong je brána pozitivně a doteď není přesně vysvětleno, které látky ji způsobují. Těkavé látky charakterizují aroma zeleného čaje, i když jejich koncentrace nejsou vysoké (Rawat, *et al.*, 2007).

Experimentální část

V experimentální části bylo hodnoceno 17 vzorků zelených čajů. Popis vzorků uvádí tabulka č. 1. Jak je vidět z tabulky příprava výluhů zelených čajů se vyznačuje značnou variabilitou. Barva vzorků byla hodnocena ve stavu před přípravou výluhu pomocí spektrofotometru Avantes (AVA SPEC-2048, AVA LIGHT-HAL). Po kalibraci přístroje, byly hodnoceny čajové lísky zelených čajů a zjišťovány hodnoty L, a a b.

Organoleptického hodnocení zelených čajů se zúčastnilo 20 školených hodnotitelů. Hodnocení se provádělo jak před tak po zalití čajových lístků. Před přípravou výluhu se hodnotilo u čajových lístků zejména hodnocení jejich barvy, velikosti a množství přítomných stonků. Následně byl připraven čajový výluh podle doporučení výrobce. Při samotném hodnocení se hodnotila

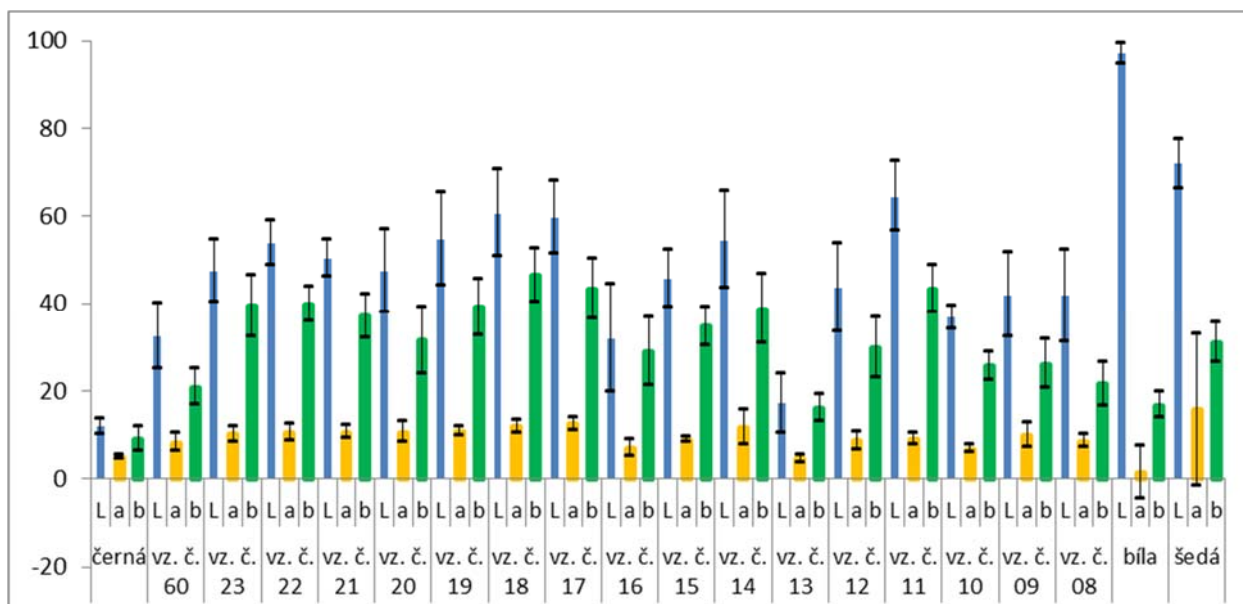
celková příjemnost barvy, intenzita barvy, celková příjemnost vůně, intenzita vůně, příjemnost hořké chuti, intenzita hořké chuti, příjemnost trpké chuti, intenzita trpké chuti, intenzita chuti po seně, listí, dřevě a intenzita rybí chuti.

Tabulka č 1: Analyzované vzorky zelených čajů

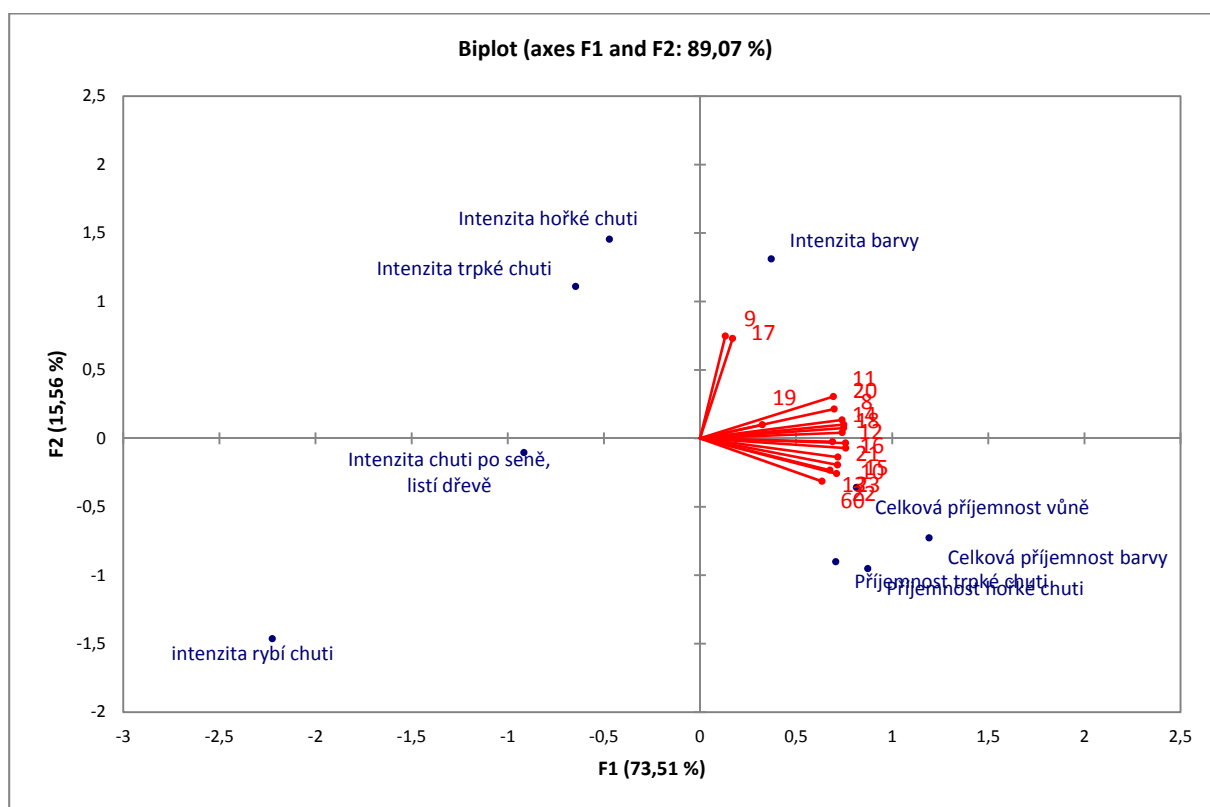
Vzorek číslo	Teplota vody	Doba vylouhování [min]	Objem vody [ml]	Složení, země původu
8	100 °C	3 - 5	-	Zelený čaj, baleno v SAE
9	100 °C	3 - 4	200	Zelený čaj, čajové lísky z různých oblastí
10	70 - 80 °C	2	220	Zelený čaj, baleno na Sri Lance
11	Horká, ne vroucí	2 - 3	200	Zelený čaj, Čína
12	Odstát vroucí vodu	3	250	Zelený čaj Gunpowder, Vyrobeno v ČR
13	80 °C	2 - 3	250	Zelený čaj, český výrobek
14	Vroucí odstátá 2 minuty	2 - 3	200	Zelený čaj, Čína
15	100 °C	2 - 4	200	Zelený čaj
16	90 °C	2 - 5	250	Bio zelený čaj, Čína
17	100 °C	3 - 4	250	nepopsáno
18	100 °C	2 - 3	-	Zelený čaj
19	100 °C	1 - 3	200	Zelený čaj, vyrobeno v EU
20	100 °C	3 - 5	-	Zelený čaj, vyrobeno v EU
21	Horká voda	5	200	Zelený čaj, baleno v Polsku
22	95°C	3 - 5	-	Zelený čaj
23	Odstátá vroucí voda	3	-	Zelený čaj, původ Asie
60	90°C	2	200	nepopsáno

Výsledky a diskuze

Na obrázku 1 je patrná široká distribuce v barvě analyzovaných vzorků zelených čajů. Při hodnocení spektrofotometrem byly největší rozdíly ve světelnosti $L(0 - 100)$. Vzorek 13 měl nejnižší hodnotu (nejtmavší) a vzorek 11 měl nevyšší (nejsvětlejší). V ose a (zelená – červená) měl nejnižší hodnotu vzorek 13 a ostatní vzorky měly vyšší intenzitu a v ose b (modrá – žlutá) měl nejnižší hodnotu vzorek 13 a nejvyšší hodnotu vzorek 46.

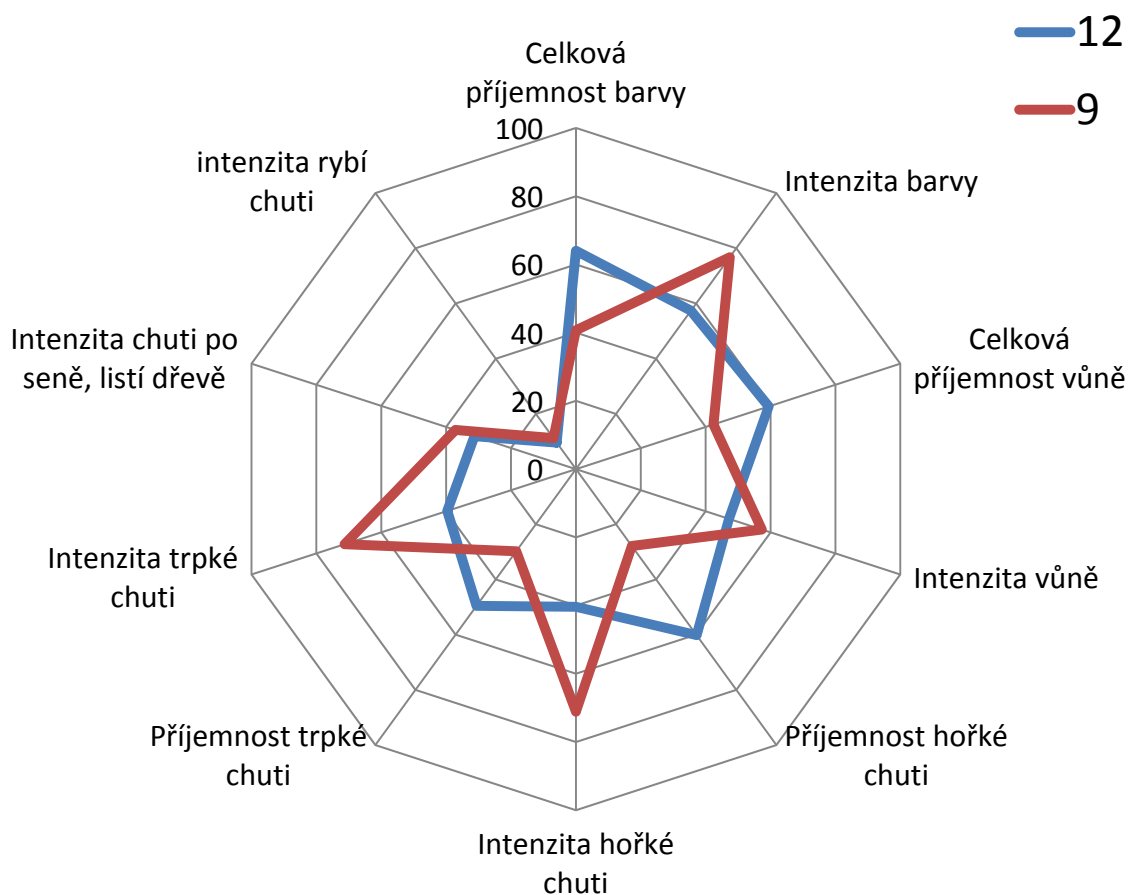


Obrázek č. 1: Výsledky spektrofotometrického měření čajů



Obrázek č. 2: Výsledky PCA analýzy zelených čajů

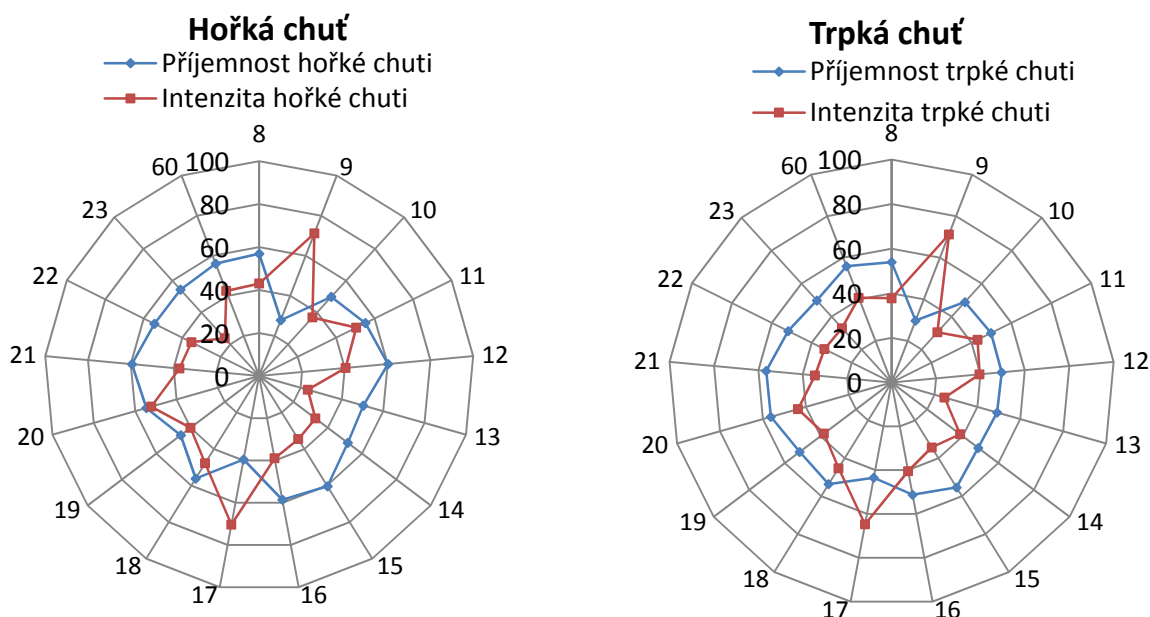
Data ze senzorké analýzy byla zpracována pomocí PCA analýzy (obr. 2). Ze skupiny analyzovaných vzorků se vyčlenily vzorky 9, 12 a 19. Největší rozdíly byly mezi vzorky v deskriptorech intenzita hořké a trpké chuti a intenzita barvy. Další deskriptor, který byl statisticky významný od ostatních, byla intenzita rybí chuti. Za rybí aroma je taky zodpovědná látka (E,E)-2,4-heptadienal, která se nachází v zeleném čaji (Zhang et al., 2013).



Obrázek č. 3: Senzorický profil nejhoršího (9) a nejlepšího vzorku (12)

Při celkovém senzorickém hodnocení byl nejhůře hodnocen vzorek č. 9 a nejlépe vzorek č. 12. Na obrázku 3 je vidět profil těchto dvou čajů a je zřejmé, že největší rozdíly jsou u intenzity hořké a trpké chuti a v jejich příjemnosti.

Dále bylo sledováno, jak hodnotí rozdíly mezi hořkou a trpkou chutí panel, který není na tyto rozdíly vycvičen. Je vidět (obr. 4), že hodnotitelé považovali trpkou a hořkou chuť za stejnou. Je velmi důležité, aby před hodnocením potravin obsahujících jak hořkou tak trpkou chuť byl panel na toto hodnocení vycvičen předkládáním modelových vzorků.



Obrázek 4: Výsledky pro příjemnost a intenzitu hořké chuti a trpké chuti u neškoleného panelu.

Závěr

Pomocí senzorycké analýzy čajů se hodnotily organoleptické znaky před přípravou a následně po přípravě čajů. Jejich příprava se lišila, někteří výrobci doporučují v návodu použít vroucí vodu, což není pro přípravu zeleného čaje typické a může to ovlivnit výslednou chuť.

Při hodnocení vzhledu byla zjištěna různá velikost lístků. Jemný prach byl ve vzorku 17, přičemž tento vzorek dopadl hůře i v senzoryckém hodnocení.

Při profilové zkoušce byl hodnocen nejlépe vzorek 12 a nejhůře vzorek 9. Vzorek 8 měl nejlepší příjemnost vůně. Neškolení hodnotitelé měli problém rozlišit hořkou a trpkou chuť čajového extraktu.

Literatura

Butt, M. S., & Sultan, M. T. (2009). Green tea: Nature's defense against malignancies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(5), 463–473.

Česká vyhláška 78/2003 Sb

Tarachiwin, L., Ute, K., Kobayashi, A., & Fukusaki, E. (2007). ¹H NMR based metabolic profiling in the evaluation of Japanese green tea quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9330–9336.

Yu, P., Yeo, A. S. L., Low, M. Y., & Zhou, W. (2014). Identifying key non-volatile compounds in ready-to-drink green tea and their impact on taste profile. *Food chemistry*, 155, 9–16.

Obanda, M., Okinda Owuor, P., & Mang'oka, R. (2001). Changes in the chemical and sensory quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. *Food Chemistry*, 75(4), 395–404.

Narukawa, M., Kimata, H., Noga, C., & Watanabe, T. (2010). Taste characterisation of green tea catechins. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(8), 1579–1585.

Liang, Y. R., Ye, Q., Jin, J., Liang, H., Lu, J. L., Du, Y. Y., et al. (2008). Chemical and instrumental assessment of green tea sensory preference. *International Journal of Food Properties*, 11(2), 258–272.

Wang, R., & Zhou, W. (2004). Stability of tea catechins in the breadmaking process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8224–8229

R. Rawat, A. Gulati, G. Kiran Babu, R. Acharya, V.K. Kaul, B. Singh, Characterization of volatile components of Kangra orthodox black tea by gas chromatography-mass spektrometry, *Food Chem*, 105 (2007) 229

Lei Zhang, Zhongda Zeng, Chunxia Zhao, Hongwei Kong, Xin Lu, Guowang Xu, A comparative study of volatile components in green, oolong and black teas by using comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry and multivariate data analysis , *Journal of Chromatography*, 1313, 2013, 245–252

P 9**NOVÁ STRATEGIE HODNOCENÍ AUTENTICITY WHISKY**

Stupák M., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Whisky je jedním z nejoblíbenějších destilátů na světě; mezi spotřebiteli je obzvláště ceněna whisky původem ze Skotska. Jde zde o jeden z hlavních exportních artiklů, který dosahuje obratu několika miliard dolarů ročně. Vzhledem k vysoké popularitě a relativně vysokým cenám, whisky bývá, stejně jako některé další drahé komodity, relativně často předmětem falšování. Je tedy velice nutné vyvíjet nové metody pro posouzení autenticity této komodity. Kvalita a autenticita whisky se staly předmětem několika vědeckých studií a pro tento účel byla vyvinuta široká škála analytických metod. Cílem této studie bylo vyvinout metodu pro posouzení autenticity pomocí plynové chromatografie (GC) ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (HRMS) a následně analyzovat soubor vzorků whisky o objemu 50 ml zakoupených v maloobchodní síti České republiky. Tento soubor obsahoval 24 vzorků whisky typu single malt od patnácti různých výrobců ze Skotska, převážně z pěti nejdůležitějších oblastí pro výrobu whisky (Speyside, Highlands, Lowlands, Campbeltown, Islay). Stáří těchto vzorků se pohybovalo převážně v rozmezí od 10 do 18 let. Dále soubor obsahoval 9 vzorků whisky typu blended, všechny původem ze Skotska. Zastoupeny byly také americké bourbony. 2 vzorky pocházely ze státu Kentucky a 2 vzorky ze státu Tennessee. Pomocí statistického softwaru SIMCA byly rozlišeny jednotlivé skupiny whisky a bourbonů na základě specifických markerů. Dále byly rozlišeny mezi sebou také whisky typu single malt původem z různých oblastí.

Projekt byl financován ze sedmého rámcového programu Evropské unie pro výzkum, technologický rozvoj a demonstrace v rámci grantové dohody č 613.688.

P 10

IMOBILIZACE ALFA-AMYLASY NA MAGNETICKÉ NOSIČE A JEJÍ VYUŽITÍ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU

Zajoncová L., Pospíšilová M.

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UP Olomouc, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc-Holice

Teoretický úvod

Amylasy katalyzují štěpení 1,4- α -D-glykosidických vazeb nevětvené (amylosy), větvené (amylopektinu) formy škrobu, glykogenu a jiných polysacharidů obsahujících tuto vazbu. α -Amylasa [EC 3.2.1.1] katalyzuje štěpení 1,4- α -D-glykosidické vazby uvnitř polysacharidového řetězce, který obsahuje tři a více těchto spojení. α -Amylasy pocházející z různých zdrojů (mikroorganismy, rostliny a živočichové) jsou vysoce odlišné v jejich primární sekvenci aminokyselin, s homologií pouze 10 % (Brayer *et al.*, 1995). Veškeré známé α -amylasy jsou metaloenzymy obsahující nejméně jeden pevně vázaný vápenatý ion, který je důležitý při utváření správné konformace aktivního místa enzymu. Několik málo α -amylas také obsahuje ve své struktuře ion chloridový, jenž je nezbytný pro jejich funkci. Aktivace chloridovými ionty je typická pro živočišnou slinnou a pankreatickou α -amylasu (Brayer *et al.*, 1995). Mezi aktivátory α -amylas patří především ionty vápníku. Amylasy postrádající vápenatý ion mohou být částečně reaktivovány přidávkou iontů ze skupiny kovů alkalických zemin jako např. Sr^{2+} , Mg^{2+} a Ba^{2+} (Oikawa, 1959). Pro živočišné amylasy je významný ion chloridový, jež alosterickým efektem zvyšuje jejich aktivitu (Levitzki & Steer, 1974). V negativním smyslu ovlivňují aktivitu α -amylas anorganické ionty, hlavně ionty těžkých kovů, nízkomolekulární (mono- a oligosacharidy) a vysokomolekulární (peptidy a proteiny) organické látky. α -Amylasy jsou i dnes hojně používány v řadě průmyslových odvětví jako např. v potravinářství, textilním a papírenském průmyslu, k hydrolýze škrobu či výrobě detergentů. Průmyslová produkce glukozových sirupů a vysoce jakostních sirupů z fruktózy je založena na hydrolýze kukuřičného, pšeničného nebo bramborového škrobu. Sladidla na bázi škrobu lze nalézt v mnoha potravinách. Sirup s vysokým obsahem fruktózy je hlavní složkou kolových nápojů (Ramachandran *et al.*, 2004). Zpočátku byl škrob štěpen působením vhodné kyseliny na vodnou suspenzi za zvýšené teploty. Nevýhodou této metody je však energetická náročnost a vznik celé řady vedlejších produktů, které musely být odstraněny. Kyselá hydrolýza tak byla postupně nahrazena metodou enzymovou, kde nevzniká tak velké množství vedlejších produktů a může probíhat za mírnějších podmínek (Aiyer, 2005). Enzymová konverze škrobu zahrnuje dva hlavní kroky, a to ztekucení (likvefakce) a zcukření (sacharifikace) (Obr. 1). V prvním kroku, tedy při zkapalňování škrobu, vznikají rozpustnější větvené i nevětvené maltodextriny. Jelikož jsou teploty, kdy dochází k částečné hydrolýze škrobu poměrně vysoké, je nutné k tomuto účelu použít termostabilní α -amylasy (*B.stearothermophilus*, *B.licheniformis*). V procesu sacharifikace se působením glukooamylasy (*A.niger*) štěpí α -dextriny vzniklé v předešlém kroku. Kromě dané exoamylasy, jež hydrolyzuje glykosidické vazby 1,4- α a pomalu vazby 1,6- α , se uplatňuje i pullulanasa štěpící větvení 1,6- α . Produktem je glukozový sirup s obsahem glukózy vyšším než 95 %. Posledním krokem při zpracování škrobu je isomerace vysokoobsahového glukozového sirupu na sladší sirup fruktózový. V kontinuálním procesu se ke konverzi glukózy používá imobilizovaná glukosaisomerasa (Crabb & Mitchinson, 1997; Crabb & Shetty, 1999).



Obr. 1 Enzymy využívané při průmyslovém zpracování škrobu (upraveno dle van der Maarel *et al.*, 2002).

α -Amylasy používané v průmyslu jsou často vystaveny extrémním podmínkám (zvýšená teplota a tlak, vysoké či naopak nízké hodnoty pH, oxidační činidla, detergenty a proteasy) (Nielsen & Borchert, 2000). V praxi se využívají ke stabilizaci amylas různá modifikační činidla na bázi sacharidů. Vychází se z předpokladu, že cukerné zbytky přirozeně se vyskytujících glykoproteinů mají vliv na jejich zvýšenou stabilitu vůči proteolýze, teplotě a chemickým denaturačním činidlům (Schmid, 1979). Modifikace reaktivních skupin proteinu může být prováděna monosacharidy, disacharidy, ale i polysacharidy. Aplikace imobilizovaných enzymů v potravinářském, farmaceutickém a chemickém průmyslu v posledních letech výrazně vzrostla. V porovnání s nativními enzymy poskytují ukotvené enzymy určité výhody. Celkové finanční náklady procesu jsou nižší, neboť imobilizovaný biokatalyzátor může být použit opakovaně a procesy lze provádět kontinuálně (Liu *et al.*, 2005). Nelze opomenout ani snadnou izolaci a purifikaci produktu, kdy konečný produkt není znečištěn enzymem. Ve většině případů jsou imobilizací příznivě ovlivněny vlastnosti enzymu jako je termostabilita, stabilita v širším spektru hodnot pH a stabilita při skladování (Hong *et al.*, 2007).

Experimentální část

Materiál a metody

Byla použita α -amylasa z vepřového pankreatu a mikroorganismu *Bacillus subtilis*. Aktivita volné, imobilizované a modifikované amylasy byla stanovena spektrofotometricky se substrátem EPS (4,6-ethyliden-*p*-nitrofenyl- α -D-maltoheptaosid), který byl součástí setu Biosystems S.A. (Španělsko). Absorbance vzniklého 4-nitrofenolu byla měřena při 405 nm. Proteiny byly stanoveny pomocí kyseliny bicinchoninové. Chemická modifikace α -amylasy byla provedena pomocí β -cyklodextrinu, které předcházela aktivace β -cyklodextrinu pomocí jodistanu (Šebela *et al.* 2006). Imobilizace na magnetické nanočástice a mikročástice obalené chitosanem byla provedena metodou s karbodiimidem a sukcinimidem (EDC.HCl a NHC). Na magnetické mikročástice obalené chitosanem byla α -amylasa imobilizována metodou glutaraldehydovou (Mateo *et al.* 2007; Liang a Zhang, 2007).

Výsledky a diskuse

Vazebná kapacita amylas

Po imobilizaci α -amylas byly částice magneticky separovány a v supernatantu byla stanovena koncentrace proteinů. Z rozdílů koncentrace proteinů před a po imobilizaci bylo stanoveno množství navázané α -amylasy na 1 mg magnetických částic (Tab. 1).

Tab. 1 Vazebná kapacita pro imobilizaci α -amylas

Zdroj	Způsob imobilizace	Typ nosiče	Vazebná kapacita ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
Vepřový pankreat	EDC-NHS	nano	$61,5 \pm 3,7$
<i>Bacillus subtilis</i>	glutaraldehyd	mikro	$37,2 \pm 2,3$
<i>Bacillus subtilis</i>	glutaraldehyd	nano	$43,3 \pm 1,9$
<i>Bacillus subtilis</i>	EDC-NHS	nano	$45,0 \pm 2,1$

Nejmenší množství amylasy se navázalo na mikročástice, což je v souladu s faktem, že čím menší má daná částice velikost, tím je její povrch větší a tím více biomolekul se může navázat. Pokud jsou porovnávány vazebné kapacity pro mikrobiální α -amylasu imobilizovanou různými metodami, výsledky jsou téměř shodné.

Teplotní stabilita

Z praktického hlediska je důležité, aby enzymy používané v průmyslu vykazovaly určitou termostabilitu, neboť při vyšší teplotě může reakce probíhat rychleji a může být dosaženo většího výtěžku. Pro porovnání termostability slouží hodnota T_{50} , což je teplota, při které enzym ztrácí 50 % své původní aktivity po 30-ti minutové inkubaci na vodní lázni. V tabulce 2 jsou uvedeny hodnoty T_{50} volných a imobilizovaných α -amylas.

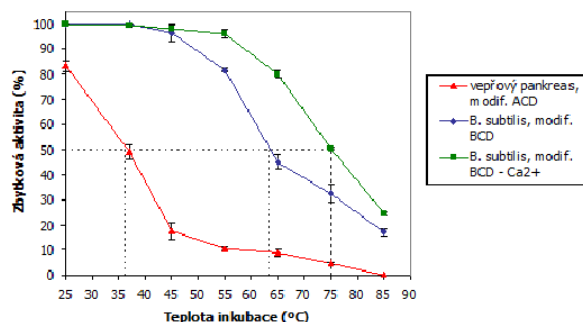
Tab. 2 Hodnoty T_{50} volných a imobilizovaných α -amylas

Zdroj	Typ	Způsob imobilizace	Nosič	T_{50} bez/ s Ca^{2+}
Vepřový pankreat	volná imobilizovaná	EDC-NHS	nano	41/53 47/51
<i>Bacillus subtilis</i>	volná imobilizovaná	glutaraldehyd	mikro	58/70 71/73
<i>Bacillus subtilis</i>	volná imobilizovaná	glutaraldehyd	nano	58/70 74/-
<i>Bacillus subtilis</i>	volná imobilizovaná	EDC-NHS	nano	58/70 75/-

Imobilizací došlo k nárůstu hodnoty T_{50} . Dále byl sledován vliv vápenatých iontů na teplotní stabilitu enzymu. Oproti mikrobiální α -amylase je vepřový pankreatický enzym náchylnější k tepelné inaktivaci. Co se týče termostability u mikrobiální α -amylasy, hodnota T_{50} u volného enzymu je 58 °C, pokud je amylasa ukotvena na magnetické mikročástice a jsou přítomny vápenaté ionty, zvýší se hodnota na 73 °C. Bylo zjištěno, že imobilizace na pevný nosič a přítomnost vápenatých iontů mají příznivý vliv na teplotní stabilitu α -amylas. Teplotní stabilita amylas je důležitým kritériem pro jejich použití v průmyslu, kdy teploty při zpracování škrobu dosahují poměrně vysokých hodnot.

Teplotní stabilita modifikovaných α -amylas

Chemická modifikace α -amylas oligosacharidy byla provedena za účelem zlepšení jejich termostability. Profil teplotní stability (Obr. 2) byl sledován v rozmezí teplot 25 - 85 °C v prostředí 50 mmol.l⁻¹ HEPES, pH 7,1, popř. 50 mmol.l⁻¹ HEPES s přísadkou 0,075 mmol.l⁻¹ CaCl₂, pH 7,1.

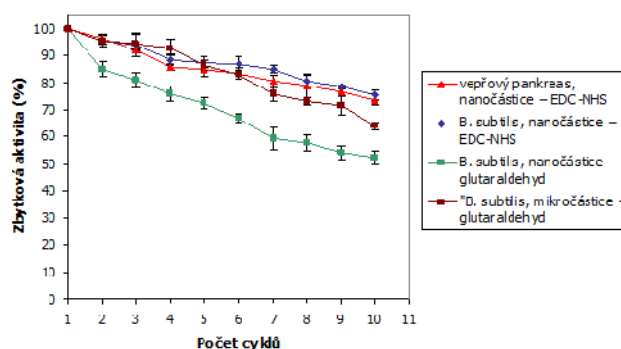


Obr. 2 Profil teplotní stability modifikovaných α -amylas v prostředí 50 mmol.l⁻¹ HEPES, pH 7,1, popř. 50 mmol.l⁻¹ HEPES s přidavkem 0,075 mmol.l⁻¹ CaCl₂, pH 7,1.

Chemická modifikace α -amylas cyklodextriny byla provedena za účelem zlepšení jejich termostability, avšak modifikace pankreatického enzymu poskytla opačné výsledky. Amylasy z vepřového pankreatu, jež byla modifikována α -cyklodextrinem, vykazovala nižší teplotní stabilitu (hodnota T_{50} je rovna 36 °C) v porovnání s nativní (hodnota T_{50} je rovna 41 °C). Působením redukčního činidla kyanoborohydridu sodného, který byl při modifikaci přidán do reakční směsi, může docházet k nežádoucí redukci disulfidových můstků a tím k destabilizaci enzymové molekuly. U mikrobiální α -amylasy disulfidové můstky chybí, a proto byla pravděpodobně její modifikace β -cyklodextrinem v tomto ohledu úspěšnější. Hodnota T_{50} se zvýšila na 64 °C, s přidavkem vápenatých solí jako stabilizátoru bylo dosaženo hodnoty 67 °C.

Operační stabilita α -amylas

Charakteristickou vlastností enzymů imobilizovaných na pevné nosiče je jejich opakovatelné použití. To je důležité zejména pro jejich použití v kontinuálních či vsádkových reaktorech, neboť umožňují snížit celkové náklady procesu. Za tímto účelem byla stanovena operační stabilita imobilizovaných α -amylas. Po každém cyklu (celkem 10 cyklů) byla určena zbytková aktivita α -amylas a ze získaných hodnot byl konstruován graf závislosti zbytkové aktivity (%) na počtu cyklů (Obr. 3).



Obr. 3 Operační stabilita imobilizovaných α -amylas

Nejmenší ztráta aktivity (24 %) byla zaznamenána u mikrobiální α -amylasy navázané na nanočástice metodou karbodiimidovou, nejvyšší (48 %) u enzymu ukotveného pomocí glutaraldehydu. Metodou karbodiimidovou byla navázána také amylasa z vepřového pankreatu, kdy ztráta aktivity byla srovnatelná (26 %) jako u enzymu mikrobiálního.

Závěr

α -Amylasa byla imobilizována na magnetické nanočástice a mikročástice. α -Amylasa byla také modifikována pomocí β -cyklodextrinu. Imobilizované α -amylasy jsou teplotně stabilnější a vykazují lepší stabilitu při skladování než volné. Přídavkem vápenatých iontů se stabilita α -amylas ještě zvýší. Modifikací α -amylasy z *Bacillus subtilis* β -cyklodextrinem se zvýšila její tepelná stabilita. Imobilizovaná α -amylasa může být využita v biotechnologických procesech, zejména v potravinářském průmyslu při výrobě glukozových a fruktózových sirupů z různých druhů škrobů.

Literatura

- Aiyer P. V. (2005) *Afr. J. Biotechnol.* **4**, 1525 – 1529.
- Brayer G. D., Luo Y., Withers, S. G. (1995) *Protein Sci.* **4**, 1730 – 1742.
- Crabb W. D., Mitchinson C. (1997) *Trends Biotechnol.* **15**, 349 – 352.
- Crabb W. D., Shetty J. K. (1999) *Curr. Opin. Microbiol.* **2**, 252 – 256.
- Hong J., Gong P., Xu D., Dong L., Yao S. (2007) *J. Biotechnol.* **128**, 597 – 605.
- Levitzki A., Steer M. (1974) *Eur. J. Biochem.* **41**, 171 – 180.
- Liang Y.Y., Zhang L.M. (2007) *Biomacromolecules* **8**, 1480-1486.
- Liu X., Guan Y., Shen R., Liu H. (2005) *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **822**, 91 – 97.
- van der Maarel M. J.E.C., van der Veen B., Uitdehaag J. C.M., Leemhuis H., Dijkhuizen L. (2002) *J. Biotechnol.* **94**, 137 – 155.
- Mateo C., Abian O., Fernandez-Lafuente R., Guisan J. M. (2000) *Biotechnol. Bioeng.* **68**, 98 – 105.
- Nielsen, J. E., Borchert, T. V. (2000) *Acta* **1543**, 253 – 374.
- Oikawa A. (1959) *J. Biochem. (Tokyo)* **46**, 463-473.
- Ramachandran S., Patel A., Nampoothiri K. M., Chandran S., Szakacs G., Soccol C.R., Pandey, A. (2004) *Braz. Arch. Biol. Technol.* **47**, 309 – 317.
- Schmid R. (1979) *Adv. Biochem. Eng.* **12**, 41 – 118.
- Šebela M. et al (2006) *Proteomics* **6**, 2959-2963.

P 11**PRŮKAZ FALŠOVÁNÍ MEDU PŘIKRMOVÁNÍM VČEL TEKUTÝMI SIRUPY – NOVÉ PŘÍSTUPY**

Kružík V., Vápenka L., Škorpilová T., Vrácovská E., Čížková H.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Med patří mezi velmi žádanou a tradiční komoditu. Vzhledem k tomu si na trhu drží poměrně vysokou cenu. Spotřebiteli je vyhledáván pro své výjimečné nutriční a senzorické vlastnosti. Opravdu kvalitního medu je v České republice nedostatek. Tato skutečnost je umocněna ještě více špatnými snůškovými podmínkami v letech 2013 i 2014. Objevuje se podezření, že někteří včelaři ve snaze udržet dostatečnou produkci medu, krmí včelstva tzv. „tekutými cukry“ i během včelařské sezóny. V posledních letech velké množství společností nabízí tzv. tekutá krmiva pro včely. Odvolávají se na vysokou čistotu svých produktů, rychlost a snadnost použití a zaručenou bezpečnost. Na druhou stranu je nutné zmínit, že se v některých těchto výrobcích vyskytují vysoké koncentrace 5-(hydroxymethyl)furfuralu (5-HMF), pro včely nestavitelné vyšší cukry, aktivní průmyslové enzymy aj. Cílem této studie bylo odhalit medy falšované sirupy za použití analýzy zbytkových enzymů. Enzymy, které se v medu přirozeně nevyskytují, zahrnují enzym beta-amylázu (EC 3.2.1.2) a gama-amylázu (EC 3.2.1.3). Tyto enzymy jsou běžně používány k enzymatické hydrolýze škrobu. Pokud jsou tedy tyto enzymy zjištěny v medu, naznačují přítomnost cukerných sirupů (z rýže, kukuřice aj.).

P 12**ZMĚNY VYBRANÝCH FYZIKÁLNĚ CHEMICKÝCH PARAMETRŮ MEDŮ PO DESETI LETECH SKLADOVÁNÍ**

Dluhošová S., Zábrodská B., Bartáková K., Vorlová L.

Ústav hygieny a technologie mléka, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42 Brno

Úvod

V roce 2014 jsme provedly analýzu medů vytočených v roce 2004. Zaměřily jsme se na změny fyzikálně-chemických parametrů, tj. obsah vody, vodivost a titrační kyselost, předepsaných Vyhláškou č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. [1] Jedná se o velmi důležité parametry související se správnou zralostí a údržností medů, botanickým původem a předpoklady k nepříjemným rozkladným a fermentačním procesům v medu. [2] Cílem naší práce bylo změřit a posoudit změny nastalé po deseti letech skladování a porovnat výsledky naměřené v uvedených typech skladovacích podmínek navzájem. Současně jsme se zaměřily na soudržnost obalů medů a její vliv na hygroskopicitu medů.

Materiál a metodika

K analýzám byly použity květové a smíšené medy ($n = 30$) vytočené v roce 2004. Medy pocházejí od včelařů z České republiky z oblastí jižní a severní Moravy a východních Čech.

V roce 2004 byl na těchto medech změřen obsah vody a vodivost. Následně byly medy vzorkovány dle typu skladovacích podmínek při laboratorních teplotách 21 ± 3 °C na světle (Skupina Světlo), ve tmě (Skupina Tma) a při chladničkové teplotě 3 ± 1 °C (Skupina Lednice). [3]

V roce 2014 jsme provedly analýzu fyzikálně-chemických parametrů, tj. obsah vody, vodivost a kyselost dle metod popsanych v Harmonizovaných metodách Evropské komise pro med. [4]

V průběhu analýz jsme zaznamenávaly vzorky, u nichž došlo k narušení soudržnosti obalů. Zjištěné skutečnosti jsme porovnály s naměřeným obsahem vody v daném vzorku a posoudily změnu hygroskopicity medů.

Výsledky

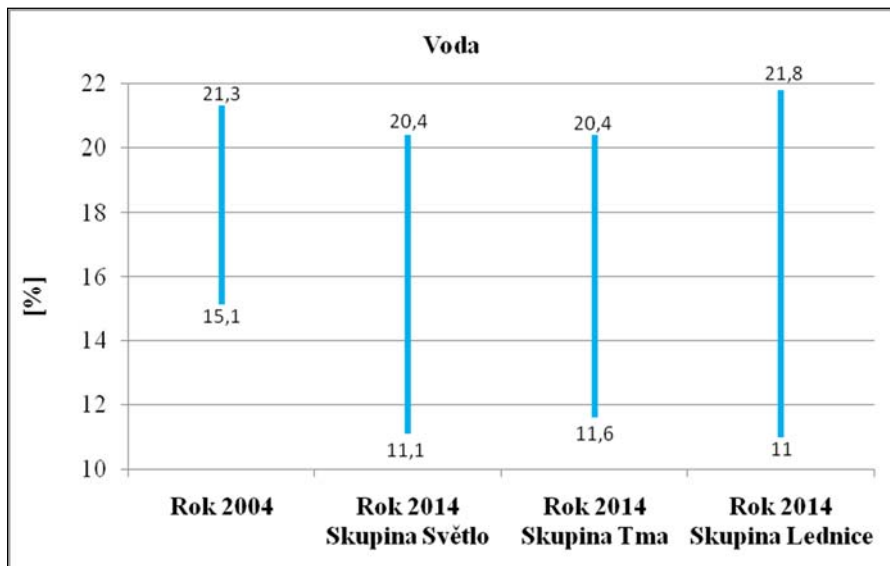
Vlivem desetiletého skladování došlo k vysoce významnému ($p < 0,01$) poklesu obsahu vody v medech uchovaných při laboratorních teplotách na světle a ve tmě, zatímco u medů v lednici byl zaznamenán vysoce významný ($p < 0,01$) nárůst obsahu vody. Srovnáním skladovacích podmínek jsme zjistily statisticky významný rozdíl u medů skladovaných v lednici a při laboratorních teplotách, u nichž byl zjištěn nižší obsah vody. Porovnáním medů na světle a ve tmě jsme nezjistily statisticky významné rozdíly.

Porovnáním hodnot vodivosti z roku 2004 a 2014 jsme shledaly statisticky vysoce významný ($p < 0,01$) nárůst vodivosti vlivem dlouhodobého skladování. Při srovnání jednotlivých typů skladovacích podmínek jsme zjistily, že medy skladované v lednici vykazují vyšší hodnoty vodivosti a jsou zde statisticky významné rozdíly oproti medům uchovávaným při laboratorních teplotách. Hodnoty medů skladovaných na světle a ve tmě nevykazovaly statisticky významné rozdíly.

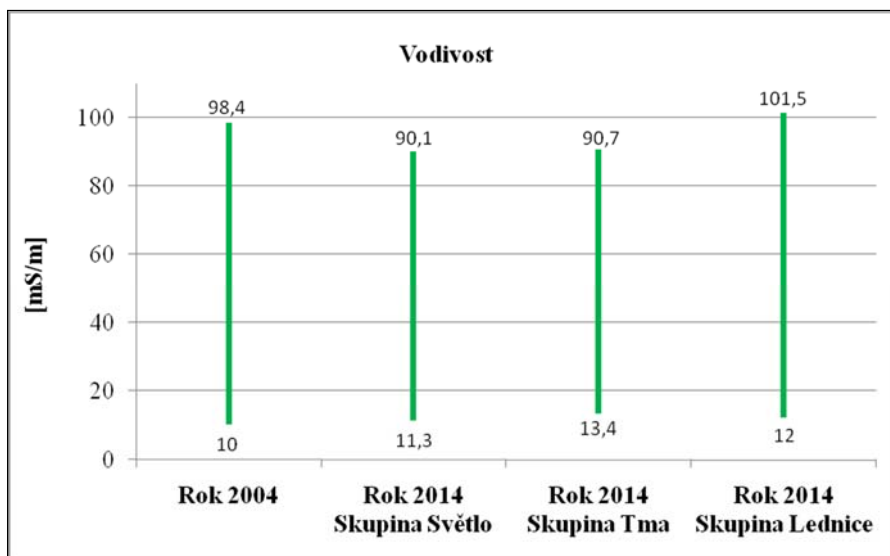
Hodnoty titrační kyselosti zjištěné u medů skladovaných při laboratorní teplotě ve tmě byly významně vyšší než u medů skladovaných v lednici. Podobný výsledek byl zjištěn při porovnání titrační kyselosti u medů skladovaných při laboratorní teplotě na světle a v lednici, tzn. že titrační

kyselost medů uchovaných na světle byla statisticky významně vyšší než u medů skladovaných v lednici. Co se týká porovnání titrační kyselosti u medů skladovaných při laboratorní teplotě na světle a ve tmě, medy ve tmě vykazovaly vyšší titrační kyselost než medy na světle.

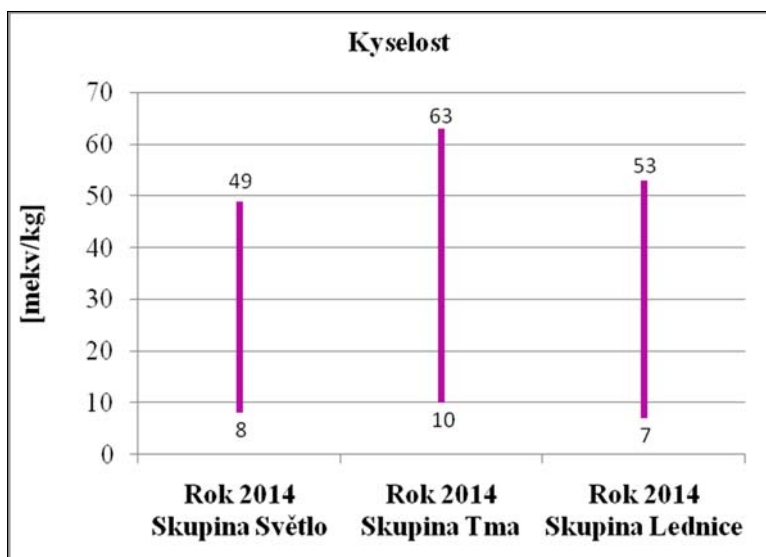
V grafech č. 1 – 3 je uvedeno rozpětí naměřených hodnot a jejich srovnání v daných letech.



Graf č. 1: Obsah vody v roce 2004 a 2014 (minimální a maximální hodnoty)

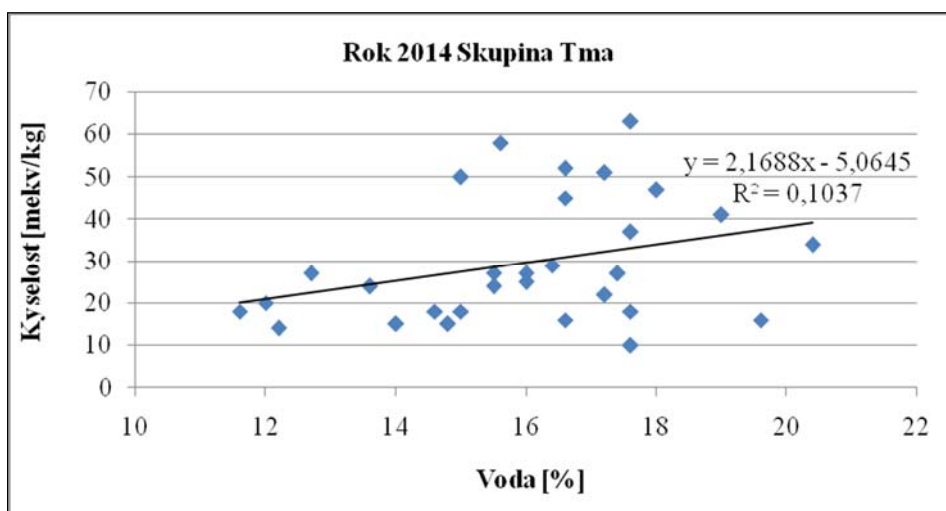


Graf č. 2: Vodivost v roce 2004 a 2014 (minimální a maximální hodnoty)



Graf č. 3: Kyselost v roce 2014 (minimální a maximální hodnoty)

Byla zjištěna závislost titrační kyselosti na obsahu vody v medech analyzovaných v roce 2014. Nejpatrnější závislost byla pozorována u medů Skupiny Tma, jak znázorňuje graf č. 4.



Graf č. 4: Závislost titrační kyselosti na obsahu vody

Během analýz byla hodnocena soudržnost obalů. U vzorků č. 1, 5, 15 a 30 Skupiny Světlo a u vzorku č. 2 Skupiny Tma jsme zaznamenaly porušení celistvosti obalů. Hodnoty obsahu vody u těchto nehermeticky uzavřených vzorků se pohybovaly v rozmezí 11,1 – 13,2 %.

Závěr

Během dlouhodobého skladování medu dochází k nárůstu obsahu vody, vodivosti i kyselosti, přičemž závisí na typu skladovacích podmínek a na utěsnění obalů. Prokázaly jsme rostoucí obsah vody u medů Skupiny Lednice, ale pokles u medů Skupiny Světlo a Skupiny Tma. Ten byl zřejmě způsoben porušením celistvosti obalů medů. Došlo zde k vysušení a odpaření vody z medů a tím k narušení hygroskopicity. Hodnoty vodivosti vzrostly ve všech typech skladovacích podmínek za danou dobu. U hodnot titrační kyselosti byl zaznamenán významný rozdíl u Skupiny Tma ve srovnání s jinými druhy skladování. V této studii jsme zjistily změny fyzikálně-chemických parametrů medů po deseti letech skladování a vliv jednotlivých skladovacích podmínek. Nepředpokládá se, že by takto dlouhodobě skladovaný med byl vhodný k lidské výživě, nicméně

jsme potvrdily, že není vhodné medy skladovat v chladničkových teplotách, neboť zde dochází k významnému nárůstu hodnot daných parametrů.

Poděkování

Tato studie byla podporována projektem IGA VFU Brno 209/2015/FVHE.

Literatura

1. Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládou a čokoládové bonbony, ČR
2. VORLOVÁ L., GÁLKOVÁ H., PŘIDAL A., NAVRÁTIL S., KARPÍŠKOVÁ R., Med Souborná analýza, Brno 2002, p. 1-67
3. KALÁBOVÁ K., Studium vybraných parametrů medu. Disertační práce. Brno, VFU, FVHE, 2006, p. 1-121
4. BOGDANOV S., Harmonised Methods of the Interantional Honey Commission, 2009, www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf, p. 1-63

P 13**VYBRANÉ METODY FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ ANALÝZY MEDU**

Halouzka R., Cavar Zjelkovic S., Tarkowski P.

Centrální laboratoře a podpora výzkumu - CRH, PřF UP v Olomouci

Med je přírodní sladký produkt, který vzniká transformací rostlinných šťáv bohatých na jednoduché sacharidy. Důležitou složkou medu jsou sekundární metabolity, které vykazují široké spektrum biologických účinků. S ohledem na původ medu rozlišujeme med květový (nektar) a medovicový a smíšený. V každém z jeho uvedených druhů můžeme rozeznávat mnoho variací a to v závislosti na jejich organoleptických, fyzikálně-chemických vlastnostech a botanickém původu. Kvalita medu je značně ovlivněna klimatickými podmínkami, druhem rostliny a lokalitou. Tyto faktory nepřímo ovlivňují zastoupení řady látek a tím i jeho spotřebitelskou hodnotu. V naší studii jsme analyzovali 20 vzorků medu, u kterých byl výrobcem deklarován druh (květový, medovicový a smíšený med), botanický (rozmarýn, lípa, akát) a zeměpisný původ. Cílem práce bylo osvojení si a zavedení rutinních metod pro fyzikálně-chemickou analýzu medu - obsah vody, prolinu, hydroxymethylfurfuralu, monosacharidů, volné kyselosti, aktivita diastasy. Důraz byl také kladen na identifikaci a stanovení fenolových kyselin a flavonoidů pomocí UHPLC-MS/MS. Jednodruhové medy disponují vyšším obsahem flavonoidních látek, které mohou sloužit k určení botanického druhu květiny. Deklarovaná druhová příslušnost byla potvrzena pylovou analýzou.

P 14**LUŠTĚNINY JAKO ZDROJ VYBRANÝCH MAKRO A MIKRONUTRIENTŮ**

Bernreiterová H., Kleckerová A., Dočekalová H.

Ústav chemie a biochemie, MENDELU v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

ÚVOD

Luštěniny patří již od dávné minulosti k významné a nezastupitelné skupině kulturních plodin. Jejich hlavní přínos tkví zejména v melioračním a zúrodňujícím vlivu na půdu. Neméně důležité je využití semen luskovin (luštěnin) v krmivářství a ve výživě člověka.

Luštěniny mají mimořádný nutriční a ekonomický význam pro stravování milionů lidí po celém světě, zejména pak pro obyvatele zemí, kde je omezen příjem důležitých nutričních látek, ať již z hlediska dostupnosti potravin, nebo je konzumace určitých typů potravin omezena. V České republice je konzumace luštěnin nízká. Dle údajů ČSÚ se pohybuje na úrovni 2,3 kg/os./rok.

Luštěniny jsou dobrým zdrojem bílkovin, sacharidů, minerálních látek a vitamínů. Přestože mohou kvantitativně obsahovat více nutričních látek, jejich biologická využitelnost je v porovnání s ostatními potravinami nižší. Důvodem je vyšší obsah antinutričních látek, které dostupnost nutrientů snižují. Patrné je to i při využitelnosti minerálních látek.

Z pohledu kvantity jsou luštěniny dobrým zdrojem minerálních látek. Mezi druhy však existují, co se týče obsahu jednotlivých makro a mikroelementů, rozdíly. Ty mohou být navíc ovlivněny místem původu luštěniny a způsobem pěstování. Ke spotřebiteli se tak dostávají luštěniny s rozmanitým obsahem minerálních látek.

Cílem práce bylo stanovení vybraných makro a mikronutrientů (Ca, Mg, Fe, Zn a Cu) ve zvolených druzích luštěnin a získaná data statisticky zpracovat a vyhodnotit z hlediska jejich role ve výživě a metabolismu člověka.

MATERIÁL A METODY

Odběr vzorků probíhal od června 2013 do února 2014 v maloobchodní síti České republiky, Slovenska, Polska, Francie, Itálie a Řecka. Byly odebrány vzorky osmi druhů luštěnin: *Cicer arietinum* L., *Glycine max* L., *Lens culinaris* Medic., *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L., *Vigna angularis* L., *Vigna radiata* L. a *Vigna unguiculata* L. Odběr byl proveden s ohledem na způsob zemědělské produkce a zemi původu.

Ke stanovení vybraných elementů byla použita atomová absorpční spektrometrie s atomizací v plameni (ContrAA 700, Analytik Jena). Správnost metody byla verifikována pomocí referenčního materiálu METRANAL[®]3 (Jahodové listy).

Naměřené hodnoty byly statisticky vyhodnoceny programem STATISTICA 12 metodou analýzy variace (ANOVA), testováním rozdílů průměrných hodnot (Scheffeho test) a porovnáváním středních hodnot (nepárový T-test) na hladině významnosti $\alpha=0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Obsahy jednotlivých prvků ve vybraných luštěninách jsou shrnuty v tabulkách 1, 2.

Jako nejlepší zdroj vybraných minerálních látek byla z hlediska kvantitativního zastoupení sledovaných prvků vyhodnocena sója luštinatá (*Glycine max* L.). Způsob pěstování se na obsahu minerálních látek, s výjimkou vápníku, kde vzorky z ekologického zemědělství vykazovaly statistický vyšší obsah, neprojevil.

Tabulka č.1: Obsah vápníku a hořčíku v mg/100g dle druhu luštěnin ($\bar{x} \pm s$, každý vzorek měřen třikrát)

druh	p	Ca		Mg	
<i>Cicer arietinum</i> L.	3	77,93 ± 17,59	abc	106,73 ± 16,57	bcdefg
<i>Glycine max</i> L.	3	133,98 ± 45,49	ab	140,72 ± 13,45	abc
<i>Lens culinaris</i> Medic.	13	46,57 ± 20,05	bc	85,47 ± 12,19	dfg
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	14	120,66 ± 45,24	ab	120,14 ± 11,77	abcde
<i>Pisum sativum</i> L.	5	40,20 ± 13,26	bc	91,48 ± 10,57	cdef
<i>Vigna angularis</i>	2	67,78 ± 18,39	abc	109,92 ± 14,52	bcdef
<i>Vigna radiata</i>	2	80,74 ± 3,09	abc	116,71 ± 1,08	abcdef
<i>Vigna unguiculata</i>	1	55,02 ± 0,34	abc	138,82 ± 2,02	abcde

a, b, c, d, e, f, g jsou průměrné hodnoty statisticky významně odlišné pro $P \leq 0,05$ (ANOVA)

p – počet jednotlivých odebraných vzorků

Tabulka č. 2: Obsah železa, zinku a mědi v mg/100g dle druhu luštěnin ($\bar{x} \pm s$, každý vzorek měřen třikrát)

druh	p	Fe		Zn		Cu	
<i>Cicer arietinum</i> L.	3	6,82 ± 1,42	abc	2,89 ± 0,34	cde	0,71 ± 0,62	bcd
<i>Glycine max</i> L.	3	8,87 ± 1,94	abc	4,95 ± 0,54	ac	1,23 ± 0,19	a
<i>Lens culinaris</i> Medic.	13	10,07 ± 3,65	ab	3,88 ± 0,81	bce	0,81 ± 0,09	b
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	14	7,18 ± 1,55	bc	2,69 ± 0,23	cde	0,68 ± 0,12	cd
<i>Pisum sativum</i> L.	5	5,13 ± 0,58	bc	2,97 ± 0,58	cde	0,64 ± 0,08	cd
<i>Vigna angularis</i>	2	7,73 ± 2,24	abc	2,29 ± 0,14	cde	0,67 ± 0,05	bcd
<i>Vigna radiata</i>	2	4,84 ± 0,77	bc	2,96 ± 0,60	bcde	0,86 ± 0,12	bcd
<i>Vigna unguiculata</i>	1	5,85 ± 0,08	abc	3,55 ± 0,08	abcde	0,54 ± 0,01	bcd

a, b, c, d, e jsou průměrné hodnoty statisticky významně odlišné pro $P \leq 0,05$ (ANOVA)

p – počet jednotlivých odebraných vzorků

Čočka jedlá (*Lens culinaris* Medic.) se dle zjištěných hodnot jevila jako dobrý zdroj železa, zinku a mědi. Obsah vápníku a hořčíku byl v porovnání s dalšími druhy nižší. Při hodnocení průměrného obsahu vybraných minerálních látek nebyl mezi barevnými formami čočky zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu hořčíku, železa, zinku a mědi. Průměrný obsah vápníku se statisticky významně lišil. Zelená a žlutá čočka měla statisticky významně vyšší obsah vápníku v porovnání s červenou čočkou. Průměrný obsah vápníku u černé čočky se od zbývajících forem statisticky významně nelišil.

Způsob pěstování ovlivnil u černé čočky průměrný obsah hořčíku, zinku a mědi. Průměrný obsah hořčíku a mědi byl statisticky významně vyšší u BIO čočky, obsah zinku pak u produkce pocházející z konvenčního zemědělství. Průměrné obsahy vápníku a železa se statisticky významně nelišily. Červená čočka naproti tomu vykazovala méně rozdílů. Mimo průměrný obsah vápníku byl statisticky významný rozdíl zjištěn také u obsahu zinku a mědi. Průměrný obsah hořčíku byl statisticky významně vyšší u BIO čočky. Průměrný obsah železa byl zjištěn vyšší u konvenční produkce.

Množství vápníku, hořčíku, zinku a mědi není u zelené čočky závislé na místě pěstování. U železa bylo zjištěno statisticky významně vyšší množství u vzorků pocházejících z Kanady.

Fazol obecný (*Phaseolus vulgaris* L.) je dobrým zdrojem vápníku, hořčíku, železa a mědi, ale horším zdrojem zinku. Bylo testováno 11 typů fazolí. Průměrný obsah vápníku a hořčíku se mezi testovanými fazolemi statisticky významně lišil. Největší průměrný obsah vápníku a hořčíku byl zjištěn u fazolí pinto, nejméně vápníku bylo zjištěno u cranberry bean. Nejmenší průměrný obsah hořčíku byl naměřen u swedish brown bean. Průměrný obsah železa se mezi hodnocenými fazolemi statisticky významně nelišil. Průměrný obsah zinku

a mědi se statisticky významně lišil. Největší průměrný obsah zinku a mědi byl zjištěn u swedish brown bean, nejméně zinku obsahovaly bílé fazole. Nejmenší průměrné množství mědi bylo naměřeno u fazolu purpurového.

Porovnatelné výsledky jako u fazolu obecného byly zjištěny u druhů rodu *Vigna*. Mezi jednotlivými druhy nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu vápníku a železa. Průměrný obsah hořčíku a zinku byl naměřen u *Vigna unguiculata* L. statisticky významně vyšší než u *Vigna angularis* L. Průměrný obsah hořčíku a zinku u *Vigna radiata* L. se od zbývajících druhů statisticky významně nelišil. Průměrný obsah mědi byl u *Vigna radiata* L. v porovnání s ostatními druhy statisticky významně vyšší. Mezi zbývajících druhů nebyl v obsahu mědi zjištěn statisticky významný rozdíl.

Ekologický způsob pěstování se jevil u *Vigna angularis* L. jako výhodnější. Vzorky pěstované v ekologickém zemědělství obsahovaly statisticky významně více vápníku, hořčíku a zinku. U *Vigna radiata* L. se jevil jako výhodnější spíše konvenční způsob pěstování, protože obsah vápníku a hořčíku nebyl vyhodnocen jako statisticky významně rozdílný a statisticky významně vyšší obsah byl zjištěn u zinku a mědi. Pouze železo bylo statisticky významně vyšší u BIO vzorku.

Cizrna beraní (*Cicer arietinum* L.) se jevila jako poměrně dobrým zdrojem vápníku a mědi a méně vhodným zdrojem hořčíku, železa a zinku. Pro její pěstování se ukázalo být výhodnější ekologické zemědělství, kde byl zjištěn statisticky významně vyšší obsah vápníku, železa, zinku a mědi.

Hrách setý (*Pisum sativum* L.) se jevil jako nejméně vhodný zdroj vápníku, hořčíku, železa a mědi. Obsah zinku byl v porovnání s ostatními druhy průměrný.

Při porovnávání průměrného obsahu vybraných minerálů mezi žlutosemennou a zelenosemennou formou hrachu byl zjištěn statisticky významný rozdíl u obsahu hořčíku. Rozdíly v průměrném obsahu dalších prvků nebyly vyhodnoceny jako statisticky významné.

U zeleného hrachu pocházejícího z ČR byl zjištěn statisticky významně vyšší průměrný obsah vápníku, hořčíku a mědi v porovnání s hrachem z italské produkce. Průměrný obsah železa a mědi se mezi vzorky z porovnávaných lokalit statisticky významně nelišil. Žlutý hrách vypěstovaný na Slovensku dosahoval statisticky významně vyššího obsahu vápníku, zinku a železa v porovnání s hrachem z ČR a Polska. Průměrný obsah vápníku a mědi se mezi český a polským hrachem statisticky významně nelišil. Zinku obsahoval polský hrách statisticky významně menší průměrné množství než hrách z ČR. Rozdíl mezi průměrným obsahem hořčíku a železa nebyl mezi těmito dvěma lokalitami vyhodnocen jako statisticky významný.

ZÁVĚR

Z výsledků práce vyplývá, že nejlepším zdrojem všech vybraných prvků je sója. Naopak nejméně vhodným zdrojem se jeví hrách. Konzumace fazolu a druhů rodu *Vigna* je vhodná pro vysoký obsah vápníku a hořčíku. Velmi dobrým zdrojem železa, zinku a mědi je mimo sóju také čočka.

Způsob pěstování se neukázal jako obecně působící faktor na obsah měřených prvků. U některých druhů byl naměřen statisticky průkazný rozdíl, nicméně u většiny testovaných druhů se rozdíl jednoznačně neprojevil.

Lokalita pěstování se také neukázala jako jednoznačně působící faktor. U hrachu byl zaznamenán statisticky významný rozdíl v obsahu minerálních látek z jednotlivých lokalit, ale u čočky se tento faktor jevil spíše jako nepodstatný.

Poděkování

Práce byla vytvořena za podpory projektu CZ.1.07/2.2.00/28.0302: Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.

P 15

FYTOESTROGENY V DOPLŇCÍCH STRAVY

Krtková V., Schulzová V., Hajšlová J.

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

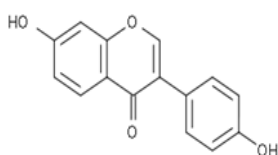
Klíčová slova: fytoestrogeny, sója, jetel, doplněk stravy, U-HPLC-MS/MS

Úvod

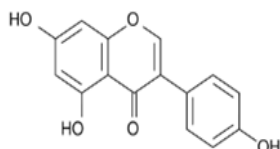
Fytoestrogeny (FE) jsou biologicky aktivní látky, které jsou přirozeně obsaženy v rostlinných materiálech, především ve formě 7- β -D-glukosidů. Vyznačují se strukturní podobností s endogenními pohlavními hormony estrogeny. Nejvýznamnějším rostlinným zdrojem FE je sója luštěnatá (*Glycine max*), vojtěška neboli tollice setá (*Medicago sativa*) a v neposlední řadě také jeteloviny (rod *Trifolium spp*). Obsaženy jsou také v naklíčených bobech sóji a semenech vojtěšky. Nejvíce zastoupenými FE v sójových bobech jsou daidzein, genistein a glycitein. Naopak pro vojtěšku a jetel jsou dominantní FE formononetin a biochanin A. Rostlinné materiály se hojně používají k výrobě doplňků stravy. Užíváním doplňků stravy může být nahrazena klasická hormonální substituční terapie, kterou nemohou některé ženy z různých důvodů podstoupit nebo ji dokonce odmítají. Rozdělení FE dle struktury do čtyř hlavních skupin shrnuje **Obr. 1**.

▪ **ISOFLAVONY** (sója, jetel)

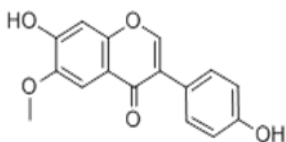
Sója luštěnatá
(*Glycine max*).



Daidzein



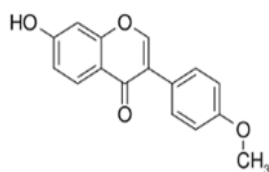
Genistein



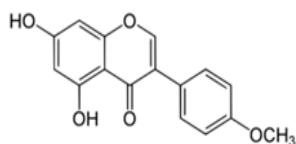
Glycitein



Jetel luční
(*Trifolium pratense* L.)



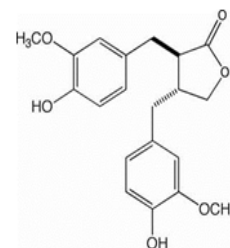
Formononetin



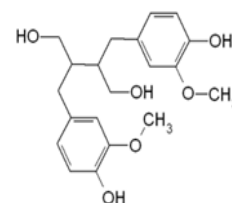
Biochanin A

▪ **LIGNANY** (semena lnu, obiloviny)

Len setý
(*Linum usitatissimum* L.)



Matairesinol



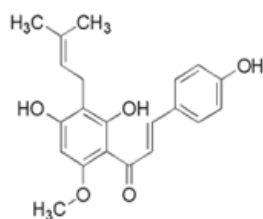
Secoisolariciresinol

Obr. 1 Rozdělení fytoestrogenů dle struktury.

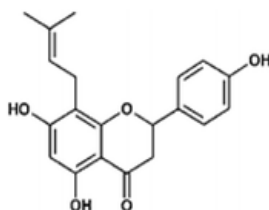
▪ **PRENYLFLAVONOIDY** (*chmel*)



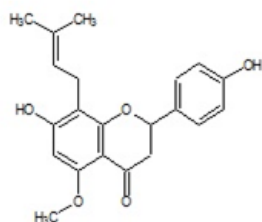
Chmel otáčivý
(*Humulus lupulus*)



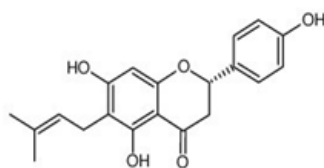
Xantohumol



8-prenylnaringenin



Isoxantohumol

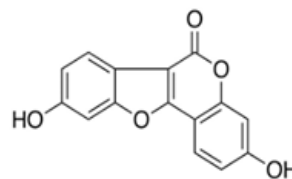


6-prenylnaringenin

▪ **PTEROKARPANY** (*vojtěška*)



Vojtěška setá
(*Medicago sativa*)



Kumestrol

Obr. 1 - pokračování Rozdělení fytoestrogenů dle struktury.

Cíl práce

Ve vybraných 15 doplňcích stravy (DS), dostupných na tuzemském trhu, byl obsah fytoestrogenů (daidzeinu, genisteinu, glyciteinu, genistinu, glycitinu, formononetinu, biochaninu A a kumestrolu) stanoven pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS/MS). Tyto výrobky jsou určeny především pro ženy v období klimakteria, k prevenci osteoporózy, či léčbě inkontinence. Pro výrobu analyzovaných doplňků stravy byl jako rostlinný materiál a zdroj FE použit extrakt ze sóji nebo jetele lučního, či samotné sójové boby / klíčky, popřípadě kombinace extraktů z jetele a sóji v různých poměrech.

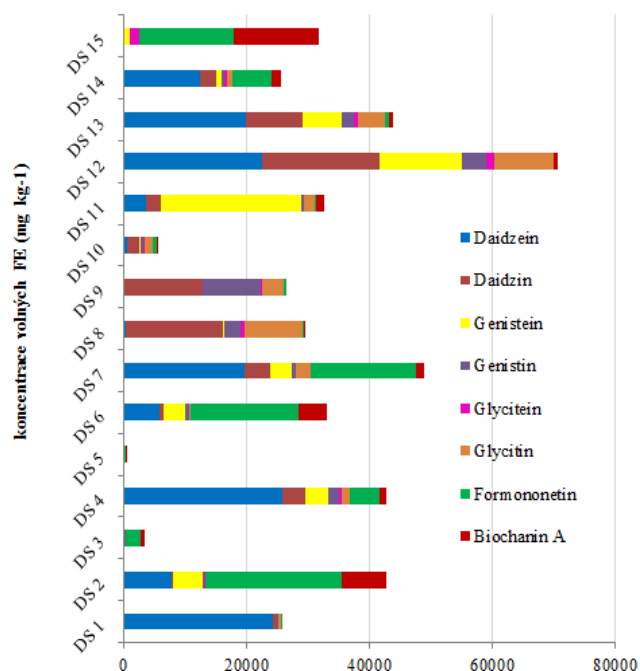
Analytická metoda

Vzhledem k rozdílné polaritě analytů jak jednotlivých skupin FE (isoflavony vs. lignany), tak i v rámci jedné skupiny (isoflavonní glykosidy vs. aglykony), není možné izolovat všechny látky stejně efektivně. Pro izolaci FE z matrice bylo využito (i) přímé extrakce (stanovení volných FE) a (ii) kyselé hydrolyzy (stanovení celkových FE). Ke stanovení FE byla využita metoda ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC - MS/MS).

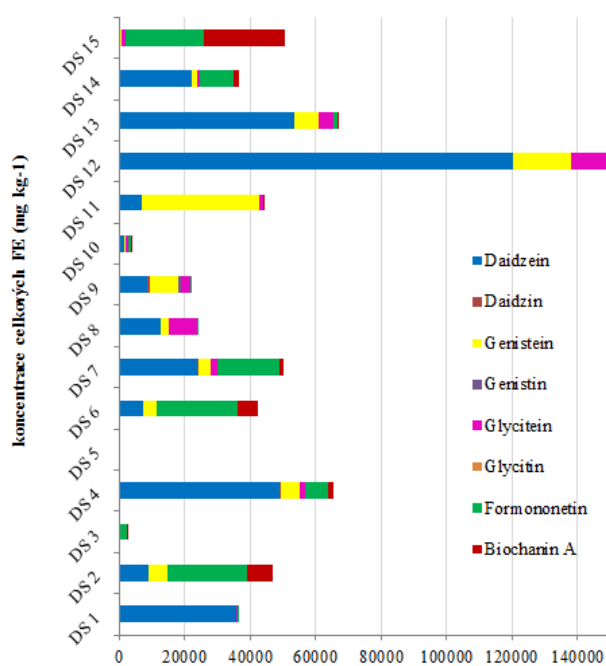
Pro separaci byla využita analytická kolona Acquity BEH C18 (50 x 2,1 mm; 1,7 μm) a jako mobilní fáze směs metanolu a 0,1% vodného roztoku kyseliny octové, gradientová eluce.

Výsledky a diskuze

V 15 doplňcích stravy dostupných v tržní síti byl pomocí U-HPLC-MS/MS stanoven obsah volných a vázaných FE jetele a sóji. Zastoupení volných a celkových FE v analyzovaných DS je zobrazeno na **Obr. 2** a **3**. V závislosti na rostlinném zdroji a koncentraci rostlinného extraktu použitého pro výrobu jednotlivých DS, se profil a obsah FE liší.



Obr. 2 Zastoupení volných FE v DS



Obr. 3 Zastoupení celkových FE v DS

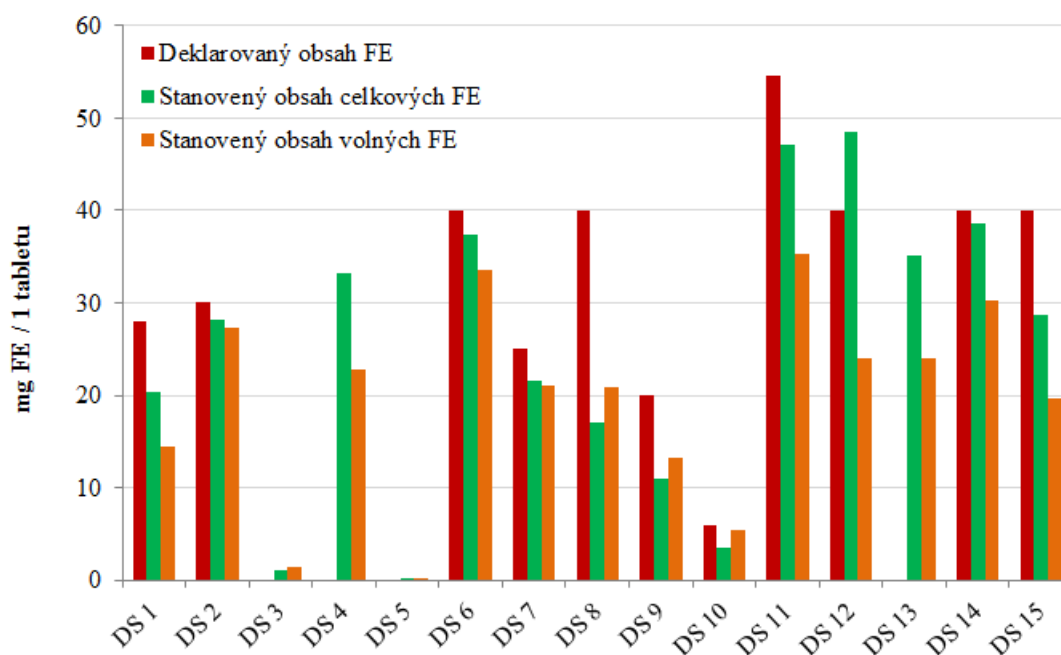
Z výsledků vyplývá (**Obr. 3**), že DS1, DS8, DS9, DS11 a DS12 byly vyrobeny pouze ze sójového materiálu bez přídavku jetele (nedetekován biochanin A a zanedbatelné množství formononetinu). V DS2, DS6 a DS15 koresponduje poměr formononetinu a biochaninu A k ostatním isoflavonům se zastoupením těchto látek v jeteli. Případně může jít o kombinaci jetele a malého množství jiné rostlinné složky. Hladiny FE u přípravků DS4, DS7, DS10, DS13 a DS14 poukazují na kombinaci sóji a jetele.

U třech vzorků byly stanoveny pouze velmi nízké koncentrace FE, s větším zastoupením formononetinu, následovaným biochaninem A u DS3 a DS5 a daidzeinu, glyciteinu a genisteinu u přípravku DS10. Obsah celkových FE v DS se pohyboval v rozmezí 346 – 149757 mg kg⁻¹.

Srovnání deklarovaného a experimentálně stanoveného obsahu FE, přepočteného na mg FE / tabletu, je shrnuto na **Obr. 4**. U vzorku DS3, DS4, DS5 a DS13 nebyl výrobcem deklarován obsah FE. Obsah celkových FE, stanovených po kyselé hydrolýze, byl v jednotlivých doplňcích stravy v rozmezí 0,2 – 49 mg na tabletu.

Závěr

Ze zjištěného profilu celkových fytoestrogenů (FE) můžeme usoudit na rostlinný materiál (na bázi jetele či sóji, případně jejich kombinace), který byl pro výrobu testovaných doplňků stravy použit. Vzniklé rozdíly mezi stanoveným a deklarovaným obsahem FE mohly být způsobeny tím, že do sumy FE experimentálně zjištěných byly zahrnuty pouze sledované FE (daidzein, genistein, glycitein, daizin, genistin, glycitin, biochanin A, formononetin a kumestrol), zatímco výrobce mohl zohledňovat i FE z jiných rostlinných zdrojů, které se v některých DS rovněž vyskytují. Zjištěné hodnoty se obecně shodují s deklarací výrobce. V současné době nejsou pro FE stanoveny maximální hygienické limity v potravinách a doplňcích stravy. Jedná se stále o diskutovanou skupinu látek především z hlediska biologických účinků (pozitivních, případných negativních) na lidskou populaci.



Obr. 4 Srovnání deklarovaného a experimentálně stanoveného obsahu FE v DS.

Poděkování

Tato studie vznikla za podpory projektů (i) Mze QI111C016 a (ii) účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015)

Literatura

1. Delmonte P., Perry J., Rader J. I.: Determination of isoflavones in dietary supplements containing soy, red clover and kudzu: Extraction followed by basic or acid hydrolysis, *Journal of Chromatography A*, **2006**, 1107, 59-69.
2. Luhnle G. G. C., Dell' Aquila C., Runswick S. A.: Variability of phytoestrogen content in foods from different source, *Food Chemistry*, **2009**, 113, 1184-1187.
3. Boniglia C., Carratu B., Gargiulo R.: Content of phytoestrogens in soy-based dietary supplements, *Food Chemistry*, **2009**, 115, 1389-1392.
4. Cederrot C. R., Nef S.: Soy, phytoestrogens and metabolism: A review, *Molecular and cellular Endocrinology*, **2009**, 304, 30-42.
5. Fiechter G., Raba B., Jungmayr A., Mayer H. K.: Characterization of isoflavone composition in soy-based nutritional supplements via ultra performance liquid chromatography, *Analytica Chimica Acta*, **2010**, 672, 72-78.
6. Boucher B. A., Cotterchio M: Use of isoflavone supplements is associated with reduced postmenopausal breast cancer risk, *International Journal of Cancer*, **2013**, 132, 1439-1450.

P 16**ANALÝZA LIPIDICKÉ FRAKCE VYBRANÝCH PLODNIC HUB**

Hauser J., Doležal M., Ilko V., Pudil F.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Plodnice vyšších hub obsahují poměrně nízký obsah tuku. Díky velké druhové rozmanitosti hub je tato oblast méně prozkoumaná.

Pro analýzu byly vybrány následující druhy hub: Čirůvka fialová (*Lepista nuda*); Pestřec obecný (*Scleroderma citrinum*); Smrž pražský (*Morchella pragensis*) a Krásnoporka hřebenitá (*Albatrellus cristatus*). Celkový obsah tuků byl stanoven extrakcí lyofilizovaného vzorku hub petroletherem, za použití Soxhletova přístroje. Dále byly ve vzorku tuku hub po derivatizaci stanoveny mastné kyseliny (MK) pomocí plynové chromatografie s plameno-ionizačním detektorem (GC/FID). Pro potvrzení vzniklých methylesterů MK byla použita plynová chromatografie s hmotnostním detektorem (GC/MS).

**Z TECHNICKÝCH DŮVODŮ ZAČÍNÁ PLNÝ TEXT
TOHOTO PŘÍSPĚVKU NA STR. 200 SBORNÍKU**

**PO KLIKNUTÍ NA TENTO NÁPIS SE KURZOR
PŘEMÍSTÍ NA ZAČÁTEK PLNÉHO TEXTU**

P 17

SENZORICKY AKTIVNÍ SÍRNÉ SLOUČENINY HOUŽEVNATCE JEDLÉHO (*LENTINULA EDODES*)

Kupcová K., Štefanová I., Kubec R.

Katedra aplikované chemie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 1457, 370 05 České Budějovice

Úvod

Infekční onemocnění zůstávají i nadále jednou z hlavních hrozeb pro lidské zdraví. Mnoho antibiotik pro klinické využití bylo izolováno z plísní nebo z bakterií řádu *Actinomycetales*. Ačkoliv produkce významných antibiotik (penicilin, cefalosporin a griseofulvin) některými druhy hub je dobře známa, výskyt sloučenin s antimikrobiální aktivitou v houbách je stále nedostatečně zdokumentovaný (YAMAC & BILGILI, 2006).

Mezi jedlé houby, u kterých byly prokázány léčivé účinky, patří již od starověku houževnatec jedlý (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler). Tato houba potenciálně představuje obrovský a přesto do značné míry nevyužitý zdroj nových biologicky aktivních sloučenin. Zejména se jedná o velké množství polysacharidů s protinádorovými a imunomodulačními vlastnostmi (WASSER, 2002). Antibakteriální aktivita je další velmi zajímavou vlastností této houby prokázanou několika studiemi (MORITA & KOBAYASHI, 1967; ISHIKAWA *et al.*, 2001; BISEN *et al.*, 2010). S rostoucí odolností bakterií vůči antibiotikům mohou být tyto studie cestou vpřed v boji proti bakteriálním infekcím (HASSEGAWA *et al.*, 2005). Antimikrobiální aktivita byla zjištěna u různých extraktů z *Lentinula edodes*. Vykazují např. aktivitu proti některým kvasinkám, grampozitivním i gramnegativním bakteriím. Příkladem může být *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* či *Escherichia coli* (BISEN *et al.*, 2010).

Přestože mnoho studií prokázalo léčebné účinky této houby, zůstává stále mnoho nepoznaných oblastí, pro které si *Lentinula edodes* zaslouží detailnější zkoumání.



a)

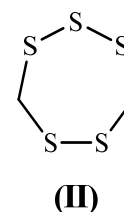
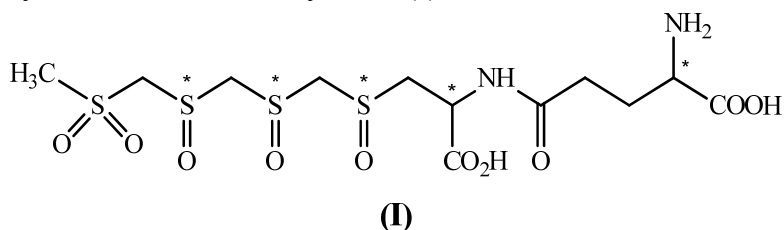


b)

Obr. 2: Plodnice *L. edodes* a) čerstvé^a, b) sušené^b.

Biologicky aktivní sloučeniny houževnatce jedlého

Provedené studie (YASUMOTO *et al.*, 1971) ukázaly, že hlavní chuťová složka *Lentinula edodes* (dále jen *LE*), lenthionin (**II**, 1,2,3,5,6-pentathiepan), vzniká enzymaticky z netěkavého prekurzoru triviálně nazývaného lentiniková kyselina (**I**), **Obr. 2**.



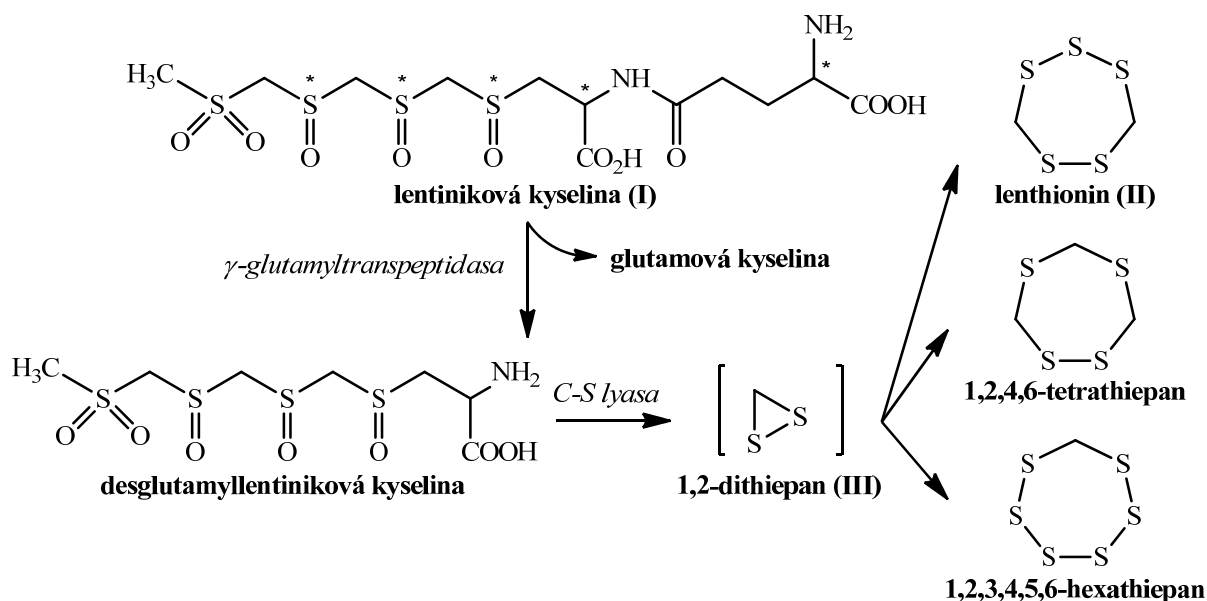
Obr. 3: Struktura lentinikové kyseliny (**I**), lenthioninu (**II**).

Zdroj:

^a <http://foodsforlonglife.blogspot.cz/2011/02/spicy-vegan-quinoa-with-asparagus-and.html> k 17. 6. 2015

^b http://1.bp.blogspot.com/_OPKpPIV_46E/SvBjW9CnICl/AAAAAAAAAIIs/rC7HDh_RkJE/s1600-h/320+med.jpg k 17. 6. 2015

Tvorba senzoricky aktivních sirných sloučenin, včetně lenthioninu (**II**), z lentinikové kyseliny (**I**) zahrnuje dvě hlavní fáze. Enzymově katalyzovaný rozklad lentinikové kyseliny (**I**) a poté spontánní polymeraci vzniklého 1,2-dithiepanu (**III**). Přeměnu lentinikové kyseliny (**I**) na těkavé sirné sloučeniny katalyzují enzymy γ -glutamyltransferasa a C-S lyasa, **Obr. 3**.



Obr. 4: Mechanismus tvorby sirných sloučenin *LE* (CHEN & HO, 1986).

CÍL STUDIE

- A. Izolace lenthioninu (**II**) z plodnic *LE* metodou RP-HPLC/PDA,
- B. testování antimikrobiální aktivity vybraných frakcí mikrodiluční metodou.

MATERIÁL A METODY

Materiál

Plodnice *LE* byly získány od firmy ČESKÉ HOUBY a.s., Soběslav (www.ceskehouby.cz).

Metody

Izolace senzoricky aktivních sloučenin metodou přímé extrakce

Cílem tohoto kroku bylo optimalizovat izolaci nejvýznamnějších senzoricky aktivních sloučenin *LE* pro následnou identifikaci a antimikrobiální testování extraktů. Pro extrakci byl použit dichlormethan a diethylether (dále jen DEE).

Bylo zhomogenizováno 506 g plodnic s 1200 ml destilované vody pomocí kuchyňského mixéru. Po 30 minutách macerace byla hodnota pH macerátu 6,25. Poté bylo pH upraveno 0,1M NaOH na hodnotu 9,0. Po 24 hodinách macerování klesla hodnota pH na 7,36. Směs byla zfiltrována přes tkaninu a extrahována dvakrát CH_2Cl_2 v poměru 1:0,75 (v/v). Celkově bylo k extrakci 1800 ml směsi použito 1000 ml CH_2Cl_2 . Extrakt byl přesušen bezvodým MgSO_4 a opět zfiltrován. Po zakoncentrování na rotační vakuové odparce (dále jen RVO) při teplotě do 25 °C byl extrakt před dalšími analýzami uchován v mrazicím boxu při teplotě -28 °C. Za stejných podmínek byl připraven i diethyletherový extrakt *LE*.

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: H₂O/CH₃CN 75/25 (0 min), 5/95 (40 min), 5/95 (45 min) a 75/25 (50 min).

Separace majoritních sloučenin

Chromatografická separace lenthioninu (**II**) ze získaných CH₂Cl₂ extraktů byla provedena metodou RP-HPLC/PDA s použitím preparativní kolony Varian Dynamax Microsorb 100-5 C18, 250 × 21,4 mm (5 µm) a nástřikovaným objemem vzorku 1 ml a průtokem 18 ml/min. Gradient mobilní fáze byl shodný s gradientem pro analýzu získaných extraktů.

Z najímané frakce byl pomocí RVO při 25 °C odpařen acetonitril. Frakce byla poté extrahována dvakrát CH₂Cl₂ v poměru 1:1 (v/v), spojené organické fáze byly přesušeny bezvodým MgSO₄ a odpařeny na RVO při 25 °C. Získaný vzorek byl uchováván v mrazicím boxu při teplotě -28 °C.

Antimikrobiální aktivita

Pro mikrobiální testování byla použita mikrodiluční metoda. Antimikrobiální aktivita byla testována pro lenthionin (**II**) a extrakty získané přímou extrakcí pomocí CH₂Cl₂ (dále jen DCM ex) a DEE (dále jen DEE ex). Pro porovnání antimikrobiální aktivity bylo pro bakterie použito antibiotikum chloramfenikol, pro kvasinku tioconazol.

Antimikrobiální vlastnosti látek byly testovány na bakteriích *Bacillus cereus* CCM 869, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* CCM 3954, *Micrococcus luteus* CCM 1048 a kvasince *Candida albicans* ATCC 10231.

Při antimikrobiálním testování byl použit trypton-sojový bujón (dále jen TSB, navážka na 1 litr destilované vody: trypton – 15 g; sojový pepton – 3,75 g; NaCl – 3,75 g). Hodnota pH TSB byla upravena 1M NaOH na 7,2. Médium bylo sterilizováno v autoklávu po dobu 30 minut při teplotě 121 °C.

Z hlavní izolované sloučeniny lenthioninu (**II**), extraktů DEE ex a DCM ex byly připraveny roztoky o koncentraci 5120 µg/ml rozpuštěním v ethanolu. Ze zvolených antibiotik byly připraveny roztoky o koncentracích 640 µg/ml v ethanolu. Testované roztoky byly zfiltrány přes sterilní filtr (0,22 µm). Roztoky byly dále ředěny 10× bujónem (TSB). Další ředění (2×) bylo provedeno přímo na destičce.

Pro roztoky lenthioninu (**II**), extraktů DEE ex a DCM ex byl rozsah koncentrací na destičce od 512 µg/ml do 1 µg/ml. V případě zvolených antibiotik od 64 µg/ml do 0,125 µg/ml. Celkový objem roztoku v každé jamce po ředění byl 100 µl. Každá jamka (kromě kontroly čistoty) byla zaočkována 5 µl mikrobiální suspenze o koncentraci 10⁷ CFU/ml ve sterilním bujónu.

Mikrotitrační destičky byly kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hod v případě bakterií, 48 hod v případě kvasinky. Po kultivaci byla změřena hodnota absorbance zákalu při vlnové délce 405 nm na spektrofotometru TECAN SPECTRA, od které byla odečtena hodnota absorbance před kultivací.

V případě inhibice ≥ 80 % byla koncentrace látky stanovena jako minimální inhibiční koncentrace (dále jen MIC). Test byl prováděn ve dvou nezávislých experimentech, popř. do doby, dokud dvě měření nebyla shodná.

VÝSLEDKY

Antimikrobiální aktivita

Byla testována antimikrobiální aktivita obou získaných extraktů (DEE ex, DCM ex), jakož i aktivita hlavní složky těchto extraktů, lenthioninu (**II**). Pro testování byly použity celkem čtyři bakterie (jedna G⁻ a tři G⁺) a jedna kvasinka. Získané hodnoty MIC DEE ex, DCM ex a lenthioninu (**II**) uvádí **Tab. I**.

Mikroorganismus/ testovaná látka*	MIC [μg/ml]				
	DEE ex	DCM ex	LEN	CH	T
<i>Bacillus cereus</i> (G+)	32	32	64	2	–
<i>Enterococcus faecalis</i> (G+)	256	256	128	8	–
<i>Escherichia coli</i> (G-)	512	512	128	4	–
<i>Micrococcus luteus</i> (G+)	64	64	32	1	–
<i>Candida albicans</i>	128	128	32	–	1

Tab. I: Minimální inhibiční koncentrace testovaných látek.

*Testované látky: **LEN** – lenthionin (**II**), **CH** – chloramfenikol, **T** – tioconazol.

DISKUZE

Vyhodnocením výsledků lze konstatovat, že lenthionin (**II**) patří mezi sloučeniny *LE* s nejvyšší antimikrobiální aktivitou. Přesto v porovnání s komerčně dostupnými antibiotiky vykazuje obecně nižší účinnost v inhibici těchto mikroorganismů. Antimikrobiální aktivita však byla porovnávána se širokospektrými antibiotiky, prioritně určenými pro léčbu těžkých infekcí, které nelze léčit jinými, méně toxickými antibiotiky. Toxicita lenthioninu (**II**) pro lidský organismus by tedy mohla být předmětem dalších studií.

ZÁVĚR

Byla optimalizována metoda pro izolaci hlavních senzoričky aktivních sloučenin *LE*. Pomocí preparativní HPLC byla izolována majoritní složka těchto extraktů a následně identifikována jako lenthionin (**II**, 1,2,3,5,6-pentathiepan).

U získaných extraktů i majoritní sloučeniny *LE*, lenthioninu (**II**), byly prokázány antimikrobiální účinky proti bakteriím *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* a kvasince *Candida albicans*.

LITERATURA

BISEN, P. S.; BAGHEL, R. K.; SANODIYA, B. S.; THAKUR, G. S.; PRASAD, G. B. K. S. (2010): *Lentinus edodes*: A Macrofungus with Pharmacological Activities. *Curr. Med. Chem.*, **17**, 2419–2430.

HASSEGAWA, R. H.; KASUYA, M. C. M.; VANETTI, M. C. D. (2005): Growth and Antibacterial Activity of *Lentinula edodes* in Liquid Media Supplemented with Agricultural Wastes. *Electron. J. Biotechnol.*, **8**, 212–217.

- CHEN, C. C., & HO, C. T. (1986). Identification of Sulfurous Compounds of Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes* Sing.). *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 830–833.
- ISHIKAWA, N. K.; KASUYA, M. C. M.; VANETTI, M. C. D. (2001): Antimicrobial Activity of *Lentinula edodes* Grown in Liquid Medium. *Braz. J. Microbiol.*, **32**, 206–210.
- MORITA, K.; KOBAYASHI, S. (1967): Structure, and Synthesis of Lenthionine and Its Analogs. *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 988–993.
- WASSER, S. P. (2002): Medicinal Mushrooms as a Source of Antitumor and Immunomodulating Polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **60**, 258–274.
- YAMAC, M.; BILGILI, F. (2006): Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates. *Pharm. Biol.*, **40**, 660–667.
- YASUMOTO, K.; IWAMI, K.; MITSUDA, H. (1971): A New Sulphur-containing Peptide from *Lentinus edodes* Acting as Precursor for Lenthionine. *Agric. Biol. Chem.* **35**, 2059–2069.

P 18**PREDIKCE TRVANLIVOSTI NEÚDRŽNÝCH POTRAVIN: STUDENÉ EMULGOVANÉ OMÁČKY**

Šístková I., Kružík V., Čížková H.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Termín „trvanlivost“ se uvádí na neúdržných výrobcích ve spojení „spotřebujte do...“, čímž se vymezuje minimální doba, po kterou si potravina při dodržení podmínek skladování zachovává své specifické vlastnosti a je zdravotně nezávadná. Základním měřítkem je v případě studených emulgovaných omáček a) mikrobiální nezávadnost a b) senzorická přijatelnost, která se obvykle odvíjí od rychlosti žluknutí přítomných tuků.

Pro predikci trvanlivosti nových nebo významně inovovaných výrobků s očekávanou dobou trvanlivosti delší než 6 měsíců byly použity tzv. zrychlené skladovací testy v následující posloupnosti:

- 1) zhodnocení podmínek výroby, použitého konzervačního zákroku, obalového materiálu, plánovaných podmínek skladování a složení výrobku;
- 2) výběr analytů pro skladovací test (základní mikrobiologický rozbor, stanovení vybraných tukových čísel, senzorické hodnocení jednostimulovou metodou srovnání se standardem);
- 3) provedení skladovacího pokusu při čtyřech různých teplotách, průběžný odběr vzorků na laboratorní rozbor;
- 4) z naměřených a extrapolovaných dat sestavení křivky skladovatelnosti.

Jako mezní hodnota byla v případě studených emulgovaných omáček použita hodnota praktické trvanlivosti (PSL – practical storage life), což je doba skladování, za kterou se projeví statisticky významné odchylky v senzorických vlastnostech od původního produktu (na hladině významnosti $P < 0,01$).

METODY

Skladovací pokusy při teplotách 5, 25, 37 a 45 °C po dobu 1,5 měsíce.

Stanovení peroxidového čísla

Stanovení primárních produktů oxidace tuků. Reakce přítomných hydroperoxidů v roztoku kyseliny octové a chloroformu s roztokem jodidu draselného. Titrace uvolněného jodu odměrným roztokem thiosíranu sodného.

Stanovení thiobarbiturového čísla

Stanovení obsahu malondialdehydu (sekundárního produktu oxidace tuků), který se ze vzorku izoluje destilací. Malondialdehyd reaguje s kyselinou 2-thiobarbiturovou za vzniku růžového zbarvení. Intenzita zbarvení barevného komplexu se proměří spektrofotometricky ($\lambda = 538$ nm).

Mikrobiologický rozbor

Kultivační stanovení kvasinek a plísní na půdě YGC (kultivace při 25 °C/3 dny) a bakterií mléčného kvašení na půdě MRS (kultivace při 30 °C/2 dny).

Senzorická analýza

Hodnocení vůně vzorků jednostimulovou metodou – hodnotitelům byl předložen standard a náhodně seřazené vzorky, které jsou hodnoceny porovnáním se standardem dle intenzity přípachu 4 bodovou stupnicí (viz Tabulka 1).

Tabulka 2: Stupnice pro hodnocení intenzity přípachu

	standard
	vzorek se téměř nezatelně liší od standardu
	vzorek se mírně liší od standardu
	vzorek se velmi liší od standardu

Vzorky – složení

Omáčka se zakysanou smetanou bez emulgátoru: zakysaná smetana 37 %, pitná voda 27 %, řepkový olej 20 %, hořčice, zeleninový komponent, vaječný žloutek, kvasný ocet lihový, cukr, jedlá sůl, modifikovaný kukuřičný škrob, cibule mletá, stabilizátory, konzervant, barvivo.

Omáčka se zakysanou smetanou s emulgátorem: zakysaná smetana 37 %, pitná voda 27 %, řepkový olej 20 %, hořčice, zeleninový komponent, vaječný žloutek, kvasný ocet lihový, cukr, jedlá sůl, modifikovaný kukuřičný škrob, cibule mletá, stabilizátor, konzervant, barvivo, antioxidant (EDTA).

Česneková omáčka: řepkový olej 40 %, pitná voda 38 %, zeleninový komponent, hořčice, kvasný ocet lihový, cukr, vaječný žloutek, modifikovaný kukuřičný škrob, jedlá sůl, česnek granulovaný, zelený pepř, stabilizátor, konzervant.

Majonéza: řepkový olej 68 %, vaječné žloutky 7,8 %, pitná voda 11 %, hořčice, cukr, kvasný ocet lihový, jedlá sůl, barvivo, antioxidant (EDTA).

Tatarská omáčka: pitná voda 43 %, řepkový olej 38 %, zeleninová směs 8,5 %, cukr, vaječné žloutky, modifikovaný kukuřičný škrob a zahušťovadlo, hořčice, jedlá sůl, ocet kvasný lihový, regulátor kyselosti, extrakt koření.

VÝSLEDKY A DISKUSE

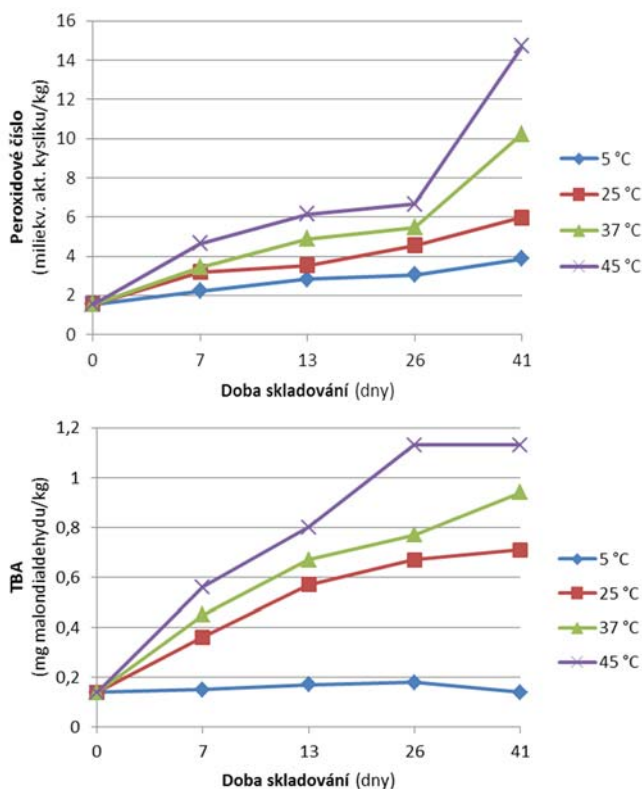
Podrobné výsledky pro omáčku se zakysanou smetanou bez antioxidantu

Základním kritériem je smyslové hodnocení, pro účely testů skladovatelnosti se obvykle hledá stav, kdy je vzorek ještě přijatelný smyslově, ale jsou statisticky zřetelné odchylky od výchozího stavu. Další hranicí je smyslová nepřijatelnost vzorku. Pro hodnocení smyslových vlastností byla zvolena technika hodnocení 4 bodovou stupnicí.

Tabulka 3: Výsledky senzorického hodnocení omáčky se zakysanou smetanou bez antioxidantu

Doba skladování (dny)	0	7	13	26	41
5 °C					
25 °C					
37 °C					
45 °C					

Smyslové hodnocení je vždy do určité míry subjektivní a nemusí dostatečně postihnout trendy, paralelně je potřeba sledovat vybraná objektivní kritéria. V případě dresinku je vhodné sledovat např. primární oxidační produkty, sekundární oxidační produkty, popř. sledovat pokles obsahu hlavních antioxidantů. Na základě znalosti složení výrobku, literárních odkazů a vstupních rozborů bylo pro sledování zvoleno peroxidové a thiobarbiturové číslo (viz Obrázek 1) a úroveň mikrobiální kontaminace (viz Tabulka 3).

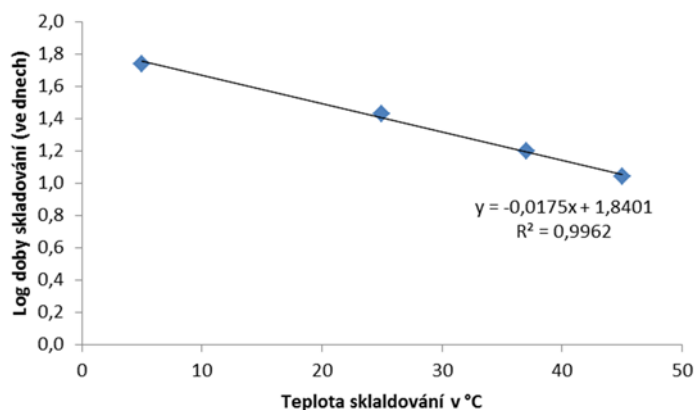


Obrázek 5: Grafické vyjádření závislosti peroxidového (vlevo) a thiobarbiturového (vpravo) čísla na době a na teplotě skladování

Tabulka 4: Výsledky kultivačního stanovení bakterií mléčného kvašení a kvasinek a plísní v závislosti na době a na teplotě skladování

Bakterie mléčného kvašení (MRS agar) [KTJ/g]				Kvasinky a plísně (GKCh agar) [KTJ/g]			
Doba skladování (dny)	0	26	41	Doba skladování (dny)	0	26	41
5 °C	<5	<5	<5	5 °C	<5	<5	<5
25 °C	<5	$2,7 \cdot 10^5$	$5,8 \cdot 10^2$	25 °C	<5	<5	<5
37 °C	<5	$1,3 \cdot 10^5$	$9,9 \cdot 10^1$	37 °C	<5	<5	<5
45 °C	<5	<5	<5	45 °C	<5	<5	<5

Z naměřených a extrapolovaných dat byla sestrojena křivka skladovatelnosti, viz Obrázek 2. Jako mezní hodnota byla použita hodnota praktické trvanlivosti (PSL – practical storage life) tj. stav, ve kterém je výrobek sensoricky i analyticky již odlišný o čerstvého, ale stále přijatelný pro spotřebitele. Odhad trvanlivosti analyzovaného dresinku vyjádřený jako doba skladování při 5, 10 a 25 °C je uveden v Tabulce 4.



Obrázek 6: Křivka skladovatelnosti pro omáčku se zakysanou smetanou bez antioxidantu

Odhad praktické trvanlivosti analyzovaných vzorků

Tabulka 5: Odhad praktické trvanlivosti analyzovaných vzorků

Vzorek	Doporučená teplota skladování (°C)	Záruční doba (dny)	Teplota skladování (°C)	Praktická trvanlivost (dny)
Majonéza	0–15	210	5	280
			15	91
			25	30
Tatarská omáčka	0–15	180	5	236
			15	69
			25	20
Česneková omáčka	0–25	240	5	218
			10	142
			25	39
Omáčka se zakysanou smetanou bez antioxidantu	0–25	240	5	251
			10	164
			25	29
Omáčka se zakysanou smetanou s antioxidantem	0–25	240	5	273
			10	199
			25	99

ZÁVĚR

V případě studených emulgovaných omáček se osvědčilo pro stanovení doby trvanlivosti sledovat vedle smyslových vlastností i primární a sekundární oxidační produkty tuků a úroveň mikrobiální kontaminace, přičemž určujícím parametrem je kinetika žluknutí tuků. Z provedených sledování je zřejmé, že oxidační změny u analyzovaných vzorků probíhají v závislosti na teplotě a jsou značně individuální, související se složením vzorku. Analyzované studené emulgované omáčky mají výrobcem doporučenou teplotu skladování 0–15 (25) °C, z našich výsledků je patrné, že při

teplotě 15 (25) °C dochází k významným změnám v senzorických vlastnostech výrobku již před koncem doby jeho trvanlivosti. Skladování při vyšších než chladírenských teplotách nelze doporučit.

PODĚKOVÁNÍ

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015): A1_FPBT_2015_002.

POUŽITÁ LITERATURA

Davídek J. a kol., 1981: Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, s. 301-302.

Tarladgis B.G., Croft A.G., 1960: *A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods*. J. Am. Oil Chem. Soc., 37, s. 44-48.

Valentas K.J. a kol., 1997: Handbook of Food Engineering Practice. CRC Press LLC, 718 s.

P 19**VLIV DÉLKY SÁDKOVÁNÍ NA SPEKTRUM MASTNÝCH KYSELIN V TUKU KAPRA OBECNÉHO (*CYPRINUS CARPIO* L.)**

Kleinová J. (1), Mareš J. (3), Brabec T. (3), Mareček J. (2)

¹Ústav chemie a biochemie²[Ústav zemědělské, potravinářské a environmentální techniky](#)³[Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství](#)

Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno

Úvod

Z nutričního hlediska mají mastné kyseliny velký význam. Denní doporučená dávka tuků činí 30 – 35 % celkového příjmu energie. Tuky jsou zdrojem vitaminů rozpustných v tucích, ve formě tukových zásob chrání vnitřní orgány. V neposlední řadě jsou významným zdrojem energie [1].

Nasycené mastné kyseliny převažují zejména v tucích živočišného původu, rybí tuk je výjimkou. Vysoký příjem těchto kyselin vede obecně k zvýšené hladině cholesterolu v krvi a tím k vyššímu riziku kardiovaskulárních nemocí. Jejich spotřeba je v České republice téměř dvakrát vyšší, než jsou doporučované hodnoty. Nenasycené mastné kyseliny naopak odbourávají cholesterol. Pozitivní vliv byl doložen především řadě n-3, která snižuje hladinu LDL cholesterolu v krvi, kterým jsou zásobeny všechny tělesné buňky a pokud ho je přebytek, hromadí se na cévních stěnách a ucpává je [2, 3, 4].

Sádkování je závěrečné období chovu ryb, při kterém jsou ryby drženy bez potravy v čisté vodě. Rybí maso je zbaveno nepříjemné vůně a chuti, částečně se odbourávají tukové zásoby. Nejprve je spotřebován tuk s nasycenými mastnými kyselinami, spektrum mastných kyselin se tedy neustále zlepšuje. Příliš dlouhé sádkování kapra obecného však není vhodné z důvodu úbytku hmotnosti a tuku [5, 6].

Materiál a metodika

Vzorky ryb byly odebrány z rybníků Vrkoč a Nová Ves. Ryby z rybníku Vrkoč se sádkovaly 51 dní od výlovu, z rybníku Nová Ves 30 dní. Obsah mastných kyselin byl stanoven v koncentraci g·kg⁻¹, která udává obsah v 1 kg svaloviny. Po vysušení svaloviny byl určen obsah tuku v sušině pomocí soxhletovy extrakce. Dalším sledovaným parametrem byl přírůstek hmotnosti a výtěžnost ryb, která udává procentický podíl rybího těla bez vnitřností.

Pro analýzu mastných kyselin byl použit plynový chromatograf HP 4890D (Hewlett Packard) s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID). Separace byla provedena na koloně DB-23 (60 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Pro měření byl zvolen teplotní program: T1 = 100 °C, t1 = 3 min, 10 °C/min na T2 = 170 °C, t2 = 0 min, 4 °C/min na T3 = 230 °C, t3 = 8 min, 5 °C/min na T4 = 250 °C, t3 = 15 min. Teplota injektoru 270 °C, teplota detektoru 280 °C, nástřik 2 μl. Dělič toku byl nastaven v poměru 40:1. Průtok nosného plynu dusíku byl 1 ml/min. Výsledné chromatogramy byly zpracovány pomocí stanice CSW (verze 1.7, Data Apex, Praha). K identifikaci mastných kyselin byl použit standardní vzorek tuku z menhadena atlantského.

Výsledky a diskuze

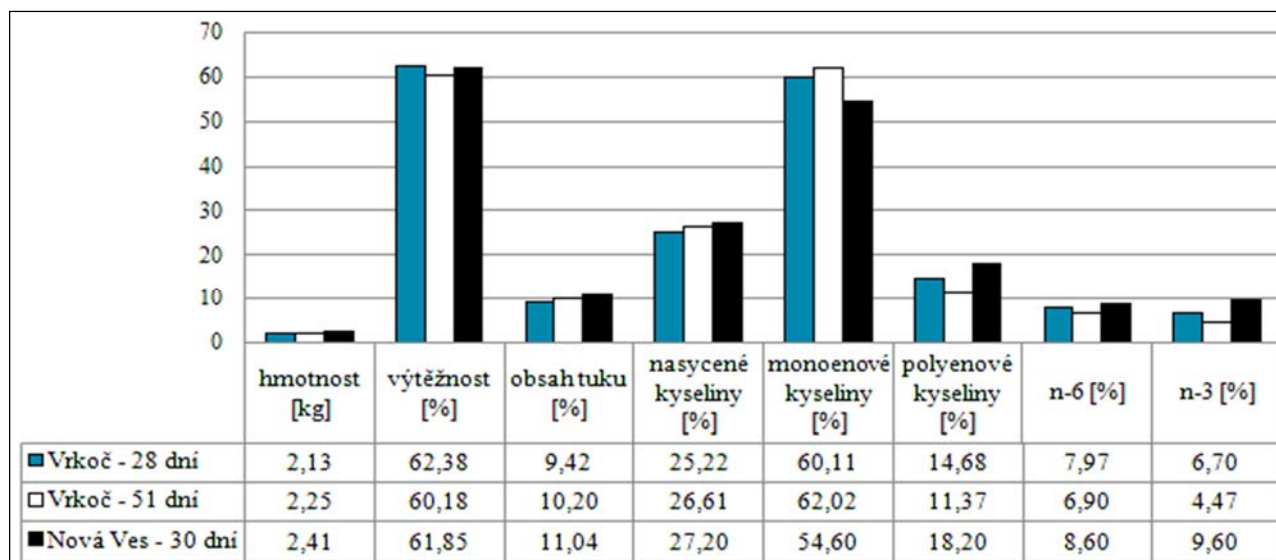
Tabulka 1 uvádí obsah mastných kyselin ve svalovině ryb a jejich procentuální podíl v tuku. Mezi prvním a druhým odběrem vzorků po sádkování byl stanoven statisticky vysoce významný rozdíl (P<0,01) v zastoupení polyenových a n-3 mastných kyselin. Rozdíl v obsahu nasycených a n-6 mastných kyselin byl statisticky významný (P<0,05). Při porovnání vzorků z rybníku Vrkoč a Nová ves po stejné době sádkování byl stanoven statisticky významný rozdíl v obsahu nasycených kyselin.

Tabulka 1: Vliv délky sádkování na spektrum mastných kyselin ve svalovém tuku kapra obecného

mastné kyseliny	Vrkoč - 28 dní		Vrkoč - 51 dní		Nová Ves - 30 dní	
	%	g·kg ⁻¹	%	g·kg ⁻¹	%	g·kg ⁻¹
C14:0	1,09	2,83	1,16	7,37	1,38	3,34
C16:0	18,96	48,97	19,94	127,18	20,19	48,95
C16:1N7	10,70	27,85	10,34	65,93	10,12	24,54
C18:0	5,17	13,31	5,52	35,19	5,63	13,64
C18:1N9C	43,66	111,85	46,20	294,73	39,29	95,24
C18:1N7	3,56	9,23	3,40	21,68	3,37	8,17
C18:2N6C	5,51	14,15	5,81	37,05	6,10	14,78
C18:3N6	0,17	0,43	0,11	0,73	0,29	0,71
C18:3N3	1,07	2,72	1,18	7,54	1,77	4,30
C18:4N3	0,29	0,73	0,31	1,95	0,47	1,13
C20:1	2,19	5,61	2,09	13,33	1,82	4,41
C20:4N6	1,91	5,01	0,88	5,64	1,71	4,14
C20:4N3	0,21	0,52	0,16	1,05	0,33	0,80
C20:5N3	1,65	4,24	1,10	7,01	2,27	5,49
C22:4N6	0,20	0,54	0,07	0,42	0,30	0,73
C22:5N6	0,18	0,49	0,03	0,19	0,20	0,49
C22:5N3	0,92	2,38	0,52	3,32	1,17	2,83
C22:6N3	2,58	6,66	1,20	7,66	3,59	8,70

Výsledky analýz mastných kyselin, doplněné dalšími sledovanými parametry, jsou souhrnně uvedeny v následujícím grafu 1. Mezi monitorovanými ukazateli byl stanoven vliv hmotnosti ryby na obsah tuku a výtěžnost (podíl opracovaného trupu k hmotnosti ryby). Ryby s nejnižší hmotností vykazovaly nejvyšší hodnoty výtěžnosti a nejnižší procentuální podíl obsahu tuku. Obsah tuku je přímo úměrný složení nasycených mastných kyselin.

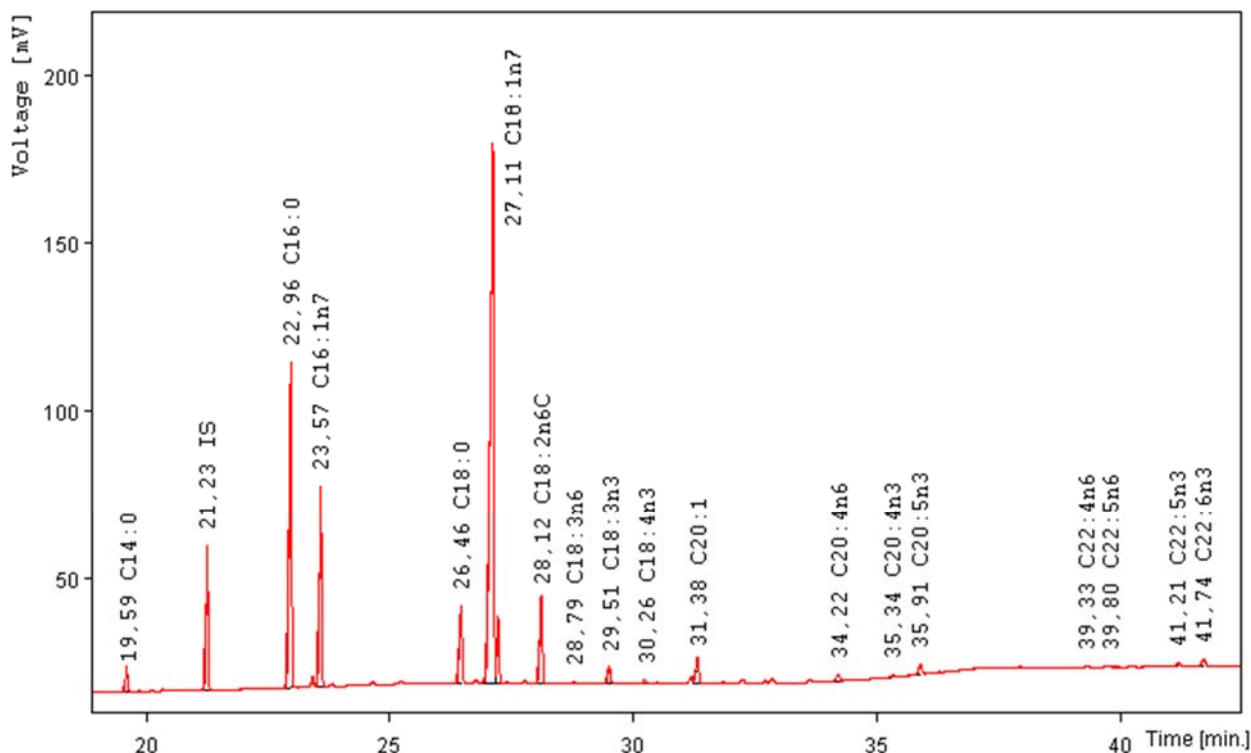
Dle celkové délky, hmotnosti ryby a obsahu tuku se nepotvrdil předpoklad, že ryby během sádkování odbourávají tukové zásoby. Z tohoto důvodu nebyl ratifikován vliv sádkování na spektrum mastných kyselin v rybím tuku.



Graf 1: Produkční parametry a spektrum mastných kyselin kapra obecného při sádkování

Z grafu 2 je zřejmé, že tuk kapra obecného obsahuje celé spektrum mastných kyselin. V nejvyšší koncentraci je dle předpokladu obsažena kyselina olejová C18:1, z nenasycených následují kyselina palmitolejová C16:1, linolová C18:2n6 a dokosahexaenová C22:6n3. Další významnou mastnou kyselinou řady n-3 je kyselina eikosapentaenová C20:5n3. Z mastných kyselin řady n-6 byla dále zaznamenána kyselina eikosatetraenová či oktadekatrienová.

Z nasycených mastných kyselin byla ve vzorcích stanovena s nejvyšším obsahem kyselina palmitová C16:0 a dále kyselina stearová C18:0 a myristová C14:0. Nasycených mastných kyselin obsahovaly vzorky průměrně jen 26 %.



Graf 2: Ukázka chromatogramu mastných kyselin v rybím tuku kapra obecného

Závěr

Výzkumem vzorků ryb z rybníku Vrkoč bylo prokázáno, že kvalita rybího tuku je nepřímo úměrná hmotnosti ryb a obsahu tuku. Ryby s nižší hmotností a s nižším procentem tuku obsahují poměrově méně nasycených kyselin ve prospěch nenasycených. Z hlediska nenasycených mastných kyselin je v tučnějších rybách obsaženo méně polyenových kyselin, zejména n-3.

Tato závislost byla stanovena i při porovnání vzorků se stejnou dobou sádkování, a tak není nutné odbourávání tukových zásob ke zlepšení spektra mastných kyselin. Z ekonomického hlediska je vhodnější snížit nutriční příjem ryby.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou Národní agentury pro zemědělský výzkum, projekt NAZV QJ1210013. Dále byly finanční zdroje čerpány z projektu Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace CZ.1.07/2.2.00/28.0302.

Literatura

1. Oomen, C. M. et al. (2000): Fish consumption and coronary heart disease mortality in Finland, Italy, and The Netherlands. *Am. J. Epidemiol.*, 151, 999-1006.
2. Albert C., et al. (2002): Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N. Engl. J. Med.*, 346, 1113-1118.
3. Connor W. E. (2000): Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71, 171-175.

4. Djousse L., et al. (2001): Relation between dietary linolenic acid and coronary artery disease in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 612-619.
5. Hu, F.B., et al. (2002): Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA*, 287, 1815-1821
6. Rissanen T., et al. (2000): Fish oil-derived fatty acids, docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid, and the risk of acute coronary events: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Circulation*, 102, 2677-2679.

P 20**ANALÝZA VYBRANÝCH PRVKŮ VE SVALOVINĚ PANGASE SPODNOOKÉHO**

Kleckerová A., Chadimová K., Dočekalová H., Pelcová P., Vičarová P

Ústav chemie a biochemie, MENDELU v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

ÚVOD

Pangas spodnooký (*Pangasius hypophthalmus*) je významnou tržní rybou, která se intenzivně chová v mnoha zemích světa. Je jedním z nejdůležitějších akvakulturních druhů v Thajsku a ve Vietnamu, a to především v povodí řeky Mekong a Chao Phraya. Stále častěji se dostává na jídelníček evropských spotřebitelů, a to především díky křehkému bílému nebo lehce narůžovělému masu bez typického rybího pachu a kostí. Spotřeba ryb v České republice byla v roce 2013 5,3 kg/os/rok. Parametry složení svaloviny pangase ve 100g filetu jsou: energetická hodnota – 66 kcal, voda – 84%, bílkoviny - 13%, tuky - 1% (Mareš et al., 2009).

MATERIÁL A METODY

Vzorky Pangase spodnookého byly zakoupeny v obchodní síti ČR v časovém rozmezí listopad 2013 – únor 2014 a až do zpracování byly v původním obalu uloženy v mrazicím boxu při teplotě -20°C. Vzorky byly následně upraveny lyofilizací a mineralizovány. Pro lyofilizaci analyzovaných vzorků byl použit lyofilizátor Power Dry LL 3000 (Thermo Scientific, USA). Pro lyofilizaci bylo naváženo 16 – 17 g svaloviny z každého vzorku Pangase spodnookého. Lyofilizace probíhala 48 hodin při -52°C, poté byl vzorek homogenizován drcením v třecí misce a uložen v plastových nádobkách v mrazicím boxu při teplotě -20 °C. Pro rozklad vzorků mineralizací byl použit přístroj MW ETHOS ONE (Milestone, Itálie). Mineralizace probíhala na mokré cestě pomocí 65% kyseliny dusičné. Do série teflonových nádobek bylo naváženo 0,4 g lyofilizovaného vzorku, ke vzorku byly přidány 4 ml 65% HNO₃ a 4 ml deionizované vody. Nádobky byly uzavřeny a přístroj byl spuštěn dle pokynů výrobce. Atomový absorpční spektrometr ContrAA[®]700 (Analytik Jena, Německo) byl použit pro stanovení koncentrací vybraných prvků. Měď byla stanovena v plameni acetylén-vzduch při vlnové délce 324,754 nm, zinek při 213,857 nm a železo při 248,327 nm. Ostatní vzorky byly stanoveny technikou elektrotermické atomizace. Chrom byl stanoven při vlnové délce 357,9 nm, kadmium při 228,8 nm, nikl při 232,0 nm a olovo při 283,3 nm. Pro kadmium byla zvolena teplota pyrolýzy 700°C, teplota atomizace 1400°C, u olova byla teplota pyrolýzy 800°C a teplota atomizace 1700°C. Pro stanovení niklu byla nastavena teplota pyrolýzy na 1200°C, teplota atomizace na 2300°C a pro chrom byla teplota pyrolýzy 1400°C a pro atomizaci 2300°C. Správnost metody byla verifikována pomocí referenčního materiálu DORM-4 (Fish Protein Certified reference Material for Trace Metals) (National Research Council, Kanada). Referenční materiál byl rozložen a proměřen dle stejné metodiky jako vzorky. Byly také stanoveny limity detekce pro všechny vybrané prvky.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Celkem bylo analyzováno 9 vzorků pangase spodnookého, u kterých byl stanoven obsah kadmia, olova, chromu, niklu, mědi, zinku a železa. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1 a 2.

Koncentrace kadmia se mezi jednotlivými vzorky lišily. Nejvyšší koncentraci kadmia obsahoval vzorek číslo 6 od výrobce Ice cap, a to 4,41 µg/kg FW. Naopak u vzorků 3 a 4 (Animalco a Nautica) byla koncentrace kadmia pod limitem detekce (< 0,18 µg/kg FW). Ani jeden vzorek nepřesáhl nejvyšší přípustné množství kadmia v rybím mase stanovené Nařízením Komise ES č. 1881/2006 (které stanovuje NPM pro Cd, Hg a Pb v různých druzích potravin), což je 0,5 mg/kg. Koncentrace olova přesahující limit detekce (3,3 µg/kg FW) byla stanovena u tří vzorků pangase. Nejvyšší množství olova obsahoval vzorek č. 6 od výrobce Ice cap, a to 26,43 µg/kg FW. Olova bylo stanoveno také u vzorku č. 8 (Klimbex), a to v koncentraci 15,65 µg/kg FW. Obsah olova

u ostatních vzorků se pohyboval pod limitem detekce. Ani jeden vzorek nepřesáhl nejvyšší přípustné množství olova v rybách stanovené Nařízením Komise ES 1881/2006, který je 0,3 mg/kg.

Koncentrace chromu v jednotlivých vzorcích pangase se výrazně lišily. Zatímco některé vzorky obsahovaly množství chromu nižší než stanovený limit detekce (vzorek č. 3 – Animalco, vzorek č. 5 – Euro Frigo, vzorek č. 7 – S-budget a vzorek č. 9 – Mamka), vzorek č. 1 od výrobce Nowaco obsahoval 26,23 µg Cr/kg FW.

Obsah niklu ve vzorcích se pohyboval v rozmezí 43,74 µg/kg FW (vzorek č. 9 – Mamka) – 228,28 µg/kg FW (vzorek č. 7 – S-budget).

Tabulka 1: Koncentrace kadmia, olova, chromu a niklu v µg/kg svěží hmotnosti ve vybraných vzorcích pangase spodnookého

	Cd (µg/kgFW)	Pb (µg/kgFW)	Cr (µg/kgFW)	Ni (µg/kgFW)
Nowaco	0,95 ± 0,03	<LOD	26,23 ± 1,31	174,89 ± 3,86
Iglo	2,13 ± 0,06	<LOD	7,82 ± 0,47	181,74 ± 2,01
Animalco	<LOD	<LOD	<LOD	82,64 ± 0,14
Nautica	<LOD	<LOD	8,92 ± 0,31	51,01 ± 0,54
Euro Frigo	1,89 ± 0,06	<LOD	<LOD	45,25 ± 0,26
Ice cap	4,41 ± 0,13	26,44 ± 0,45	21,28 ± 0,64	169,50 ± 1,11
S-budget	2,60 ± 0,08	<LOD	<LOD	228,28 ± 0,18
Klimbex	3,22 ± 0,10	15,65 ± 0,07	22,56 ± 1,12	90,86 ± 1,09
Mamka	2,25 ± 0,07	<LOD	<LOD	43,74 ± 0,09

Koncentrace mědi ve svalovině pangase spodnookého se pohybovala v rozmezí 0,32 mg/kg FW (vzorek č. 9 – Mamka) – 0,56 mg/kg FW (vzorek č. 1 – Nowaco). Doporučená denní dávka mědi dle vyhlášky č. 352/2009 je 1 mg/osobu/den, tudíž při běžné konzumaci masa Pangase spodnookého nehrozí riziko poškození zdraví vlivem účinků mědi. Nejvíce mědi obsahují ryby mořské.

Koncentrace zinku ve vzorcích pangase spodnookého se pohybovala v rozmezí 3,70 mg/kg FW (vzorek č. 9 - Mamka) až 6,33 mg/kg FW (vzorek č. 2 - Iglo). Obsahy zinku ve vzorcích svaloviny Pangase spodnookého odpovídají hodnotám nalezeným v tkáních kapra z oblasti jižních a západních Čech (3,2 – 6,5 mg/kg FW) (Svobodová et al., 2002). Doporučený denní příjem zinku dle vyhlášky č. 352/2009 činí 10 mg/osobu/den, proto lze usuzovat, že je obecně maso ryb jeho dobrým zdrojem. Konzumace pangase spojená s negativním vlivem zinku na lidské zdraví je však nepravděpodobná, toto riziko může být významnější při zvýšené konzumaci mořských ryb.

Koncentrace železa ve vzorcích pangase spodnookého se pohybovala v rozmezí 0,58 mg/kg FW (vzorek č. 9 - Mamka) až 1,74 mg/kg FW (vzorek č. 8 - Klimbex). Z doporučeného denního příjmu železa 14 mg/osobu/den plyne, že maso Pangase spodnookého není jeho dobrým zdrojem.

Správnost metody byla verifikována pomocí referenčního materiálu DORM–4 (Fish Protein Certified reference Material for Trace Metals) (National Research Council, Kanada). Referenční materiál byl rozložen a proměřen dle stejné metodiky jako vzorky. Certifikované a naměřené hodnoty jsou uvedené v tabulce 3.

Tabulka 2: Koncentrace mědi, zinku a železa v mg/kg svěží hmotnosti ve vybraných vzorcích pangase spodnookého

	Cu (mg/kgFW)	Zn (mg/kgFW)	Fe (mg/kgFW)
Nowaco	0,57 ± 0,03	4,47 ± 0,03	1,10 ± 0,07
Iglo	0,51 ± 0,00	6,33 ± 0,02	0,69 ± 0,08
Animalco	0,52 ± 0,01	4,34 ± 0,11	1,74 ± 0,18
Nautica	0,38 ± 0,03	6,17 ± 0,06	1,51 ± 0,09
Euro Frigo	0,41 ± 0,01	5,51 ± 0,05	0,77 ± 0,04
Ice cap	0,36 ± 0,00	5,27 ± 0,02	0,95 ± 0,10
S-budget	0,38 ± 0,01	4,89 ± 0,01	1,26 ± 0,12
Klimbex	0,43 ± 0,00	5,16 ± 0,04	1,74 ± 0,25
Mamka	0,33 ± 0,01	3,70 ± 0,02	0,58 ± 0,06

Tabulka 3: Certifikované a naměřené hodnoty referenčního vzorku (pro n = 3)

prvek	DORM-4 mg/kg certifikovaná hodnota	DORM-4 mg/kg naměřená hodnota
Cd	0,306 ± 0,015	0,316 ± 0,008
Pb	0,416 ± 0,053	0,398 ± 0,028
Cu	15,9 ± 0,9	16,22 ± 0,21
Zn	52,2 ± 3,2	51,41 ± 1,01
Fe	341 ± 27	359,2 ± 3,94
Cr	1,87 ± 0,16	1,76 ± 0,09
Ni	1,36 ± 0,22	1,42 ± 0,13

ZÁVĚR

Od roku 2002 bylo evropským systémem RASFF (Rapid alert system for food and feed) evidováno 194 případů, kdy filety z pangase obsahovaly závadné látky (převážně organického původu – rezidua léčiv) nebo mikroorganismy. Od roku 2010 se 4 hlášení týkala i ČR, nejednalo se však o kontaminaci těžkými kovy. Pouze v jednom případě byly nalezeny nadlimitní hodnoty těžkých kovů – 2007, Velká Británie. U žádného z námi analyzovaných vzorků nedošlo k překročení hygienických limitů, tudíž lze tyto vzorky z hlediska prvkové analýzy považovat za zdravotně nezávadné.

Poděkování

Práce byla vytvořena za podpory projektu CZ.1.07/2.2.00/28.0302: Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.

Použitá literatura

Mareš J. et al. (2009). Rybníkářství - Magazin Przemyslu Rybnego *In* Rybníkářství XIX, 5, 2009
 Svobodova, Z., et al. (2002). Content of metals in tissues of marketable common carp and in bottom sediments of selected ponds of South and West Bohemia. *Czech Journal of Animal Science*, 47(8), 339-350.

P 21**STANOVENÍ CHEMICKÝCH FOREM RTUTI V PANGASU SPODNOOKÉM
(*PANGASIUS HYPOPHthalmus*)**

Vičarová P., Smolíková V., Pelcová P., Kleckerová A., Dočekalová H.

Ústav chemie a biochemie, MENDELU v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

ÚVOD

Pangasius spodnooký (*Pangasius hypophthalmus*) je sladkovodní sumcovitou rybou přirozeně žijící v řekách jihovýchodní Asie jako je například Mekong a Chao Phraya. [1] Pangas patří na českém trhu mezi často vyhledávané ryby, díky malému množství kostí a absenci typického rybího zápachu. [2] Kvůli původu této sladkovodní ryby se však objevují spekulace ohledně její zdravotní nezávadnosti a bezpečnosti její konzumace. Mezi nejnebezpečnější kontaminanty vyskytující se v rybích tkáních je rtuť a její sloučeniny, které se do životního prostředí dostávají jak vlivem antropogenní činnosti, tak z přírodních zdrojů. [3, 4]

MATERIÁL A METODY

Analýzovaný *Pangasius hypophthalmus* byl ve zmražené formě a pocházel z obchodních sítí České republiky. Celkem bylo zakoupeno 10 vzorků pangasů původem z Vietnamu, které byli uchovávány při -18 °C až do samotného stanovení. Před vlastním stanovením rtuti byla provedena lyofilizace v lyofilizátoru (Power Dry LL 3000, Thermo Scientific) při -52 °C 48 hodin do konstantní hmotnosti a poté stanovená sušina vzorků. Z každé ryby byly odebrány tři vzorky pro stanovení celkového obsahu rtuti stanoveného pomocí spektrometru AMA 254 řízeným WinAMA softwarem. V analyzátoru byly vzorky vysušeny při 120 °C (90 s) a spáleny při 550 °C (180 s) v proudu kyslíku (200 ml.min⁻¹). Absorpce Hg⁰ byla měřena při vlnové délce 253,65 nm, kdy doba měření byla 60 s. Pro stanovení obsahu methylrtuti byl použit kapalinový chromatograf LC-200 (Perkin Elmer, Norwalk), vybavený vysokotlakou pumpou Series 200 LC, autosamplerem Series 200, UV/VIS detektorem 785 A (Perkin Elmer, 33 Norwalk) a atomovým fluorescenčním detektorem PSA Millenium Merlin (P S Analytical Ltd., Orpington,). Pro extrakci specií rtuti ze vzorků pangase byl použit vysokotlaký mikrovlnný extraktor Ethos SEL (Milestone). Extrakce byla prováděna při 55 °C, po dobu 10 minut, při výkonu 400 W, za použití 10 ml extrakčního činidla (6 mol.l⁻¹ HCl + 0,1 mol.l⁻¹ NaCl). Po extrakci byly vzorky zfiltrány nejprve přes filtrační papír (No. 389, průměr 12,5 cm) a následně přes stříkačkový teflonový mikrofiltr o velikosti pórů 0,45 µm. Supernatant byl ředěn acetátovým pufrem na objem 25 ml. Isokratická eluce specií rtuti byla prováděna na chromatografické koloně s reverzní fází Zorbax SB-C18 (4,6 x 150 mm, velikost částic 5 µm, Agilent Technologies) při průtokové rychlosti 0,8 ml.min⁻¹ s mobilní fází obsahující 6,2% methanol + 0,05% 2-sulfanylethanol + 0,02 M octan amonný.

VÝSLEDKY A DISKUZE

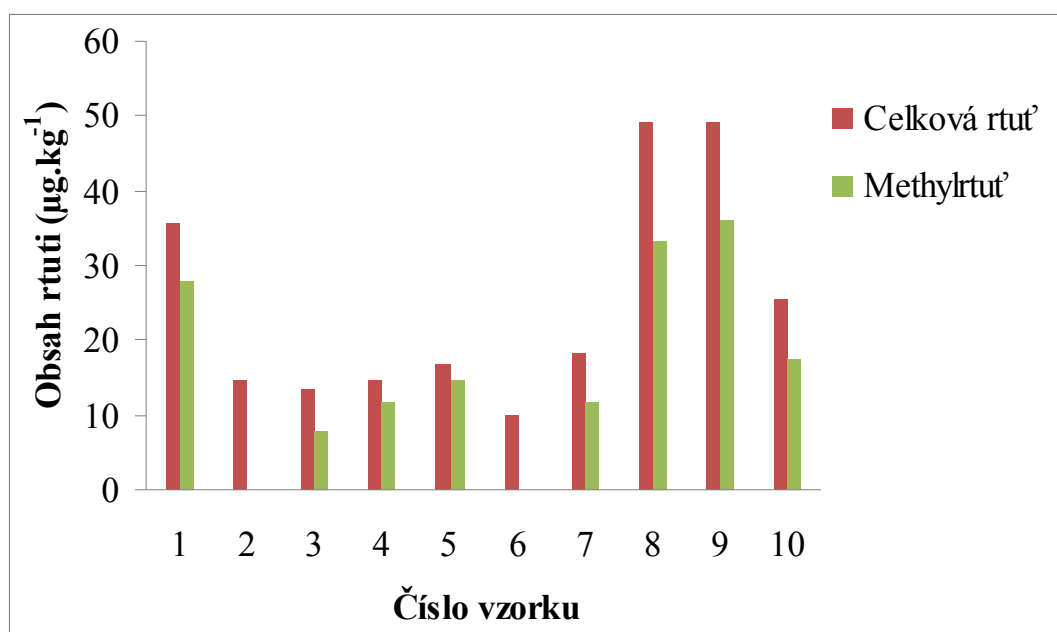
Na základě rozdílu hmotností vzorků před a po lyofilizaci byl vypočítán obsah vody a podíl sušiny v jednotlivých vzorcích. Výsledky uvádí tabulka č.1.

Z výsledků stanovení vyplývá, že s výjimkou dvou vzorků č. 2 a 10 obsahují veškeré zakoupené vzorky pangase více než 70 % vody. Studie Mareš, Grmela a Brabec [2] uvádí obsah vody ve svalovině pangase spodnookého až kolem 83%. Vyšší obsah vody je dán zejména úpravou masa, např. glazováním, nebo použitím polyfosfátů či jiných aditiv vážících vodu ve svalovině.

Tabulka č.1: Sušina a obsah vody ve vzorcích

Číslo vzorku	Sušina (%)	Obsah vody ve vzorku (%)
1	25,27	74,73
2	30,19	69,81
3	22,62	77,38
4	27,83	72,17
5	23,90	76,10
6	24,45	75,55
7	24,28	75,72
8	25,69	74,31
9	25,39	74,31
10	46,17	53,83

Obsah celkové rtuti a methylrtuti byl stanoven v deseti vzorcích *Pangasius hypophthalmus* běžně dostupného v obchodních sítích České republiky. Celkový obsah rtuti ve vzorcích svaloviny pangase se pohyboval v rozmezí od 9,9 do 49,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ v čerstvé svalové hmotě a je zobrazen na obrázku č. 1. K podobným výsledkům došla i studie Elnimr [5], který rovněž stanovil nízké obsahy celkové rtuti ve svalovině pangase. U žádného ze stanovovaných vzorků nebyl překročen maximální limit celkové rtuti 0,50 mg.kg^{-1} čerstvé hmotnosti ryb, stanovený podle Nařízení Komise (EU) č. 420/2011[6, 7].

**Obr.1:** Obsah celkové rtuti a methylrtuti ve svalovině *Pangasius hypophthalmus*

Pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s atomovou fluorescenční detekcí bylo zjištěno, že obsah methylrtuti v čerstvé hmotě (Obr. 1) byl v rozmezí od 7,9 do 36,1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, u vzorků 2 a 6 byla koncentrace methylrtuti pod limitem detekce, který byl 2,4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Studie Maršálek [8] uvádí, že obsah methylrtuti, z celkového obsahu rtuti, může být maximálně 95%, což zjištěným výsledkům odpovídá.

ZÁVĚR

Cílem toho experimentu byla problematika stanovení celkového obsahu rtuti a obsahu methylrtuti ve vzorcích pangase spodnookého. Vzorky použité k analýze byly zakoupeny v běžné spotřebitelské obchodní síti České republiky. Stanovení celkového obsahu rtuti ve vzorcích bylo provedeno na jednoúčelovém atomovém absorpčním spektrometru AMA 254. Celkový obsah rtuti v čerstvé hmotě svaloviny se pohyboval v rozmezí 9,9 – 49,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, přičemž nejnižší obsah byl naměřen ve vzorku č. 6 a nejvyšší obsah byl ve vzorku č. 8 a 9. Před vlastním stanovením methylrtuti pomocí LC-CV-AFS, byla provedena extrakce vzorků mikrovlnným extraktorem. Z výsledků získaných kapalinovou chromatografií ve spojení s atomovou fluorescenční detekcí vyplývá, že obsah methylrtuti ve vzorcích pangase se pohyboval v rozmezí od 7,9 do 36,1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. U vzorků č. 2 a 6 byl obsah methylrtuti pod mezí detekce, tedy nižší než 2,4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. U žádného ze stanovovaných vzorků nebyl překročen maximální limit rtuti 0,50 mg.kg^{-1} čerstvé hmotnosti ryb, stanovený podle Nařízení Komise (EU) č. 420/2011 [6, 7].

Poděkování: Práce byla podpořena projektem CZ.1.07/2.2.00/28.0302 Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] ORBAN E. et al., 2008. New trends in the seafood market. Sutchi catfish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets from Vietnam: Nutritional quality and safety aspects. *Food Chemistry*, 110, 383-389 s.)
- [2] MAREŠ J., GRMELA J. & BRABEC T., 2011. Pangas nebo pangasius, rybí druh šířící se našimi kuchyněmi. *Výživa a potraviny*, 3, 36-40 s. ISSN 1211-846X.
- [3] HOUSEROVÁ P. et al., 2006a. Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech - vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení. *Chemické listy*, 100, 862-876 s.
- [4] KRUŽÍKOVÁ K. et al., 2008. Mercury and methylmercury in muscle tissue of chub from the Elbe River main tributaries. *Czech Journal of Food Scientific*, 26, 65–70 s.
- [5] ELNIMR T., 2011: Evaluation of some heavy metals in *Pangasius hypophthalmus* and *Tilapia nilotica* and the role of acetic acid in lowering their levels. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 3(8), 151 – 157 s.
- [6] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 420/2011, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. [online]. 30.4.2011 [cit. 2014-10-29]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:111:FULL:CS:PDF>
- [7] NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. [online]. 19.12.2006 [cit. 2014-10-29]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>
- [8] MARŠÁLEK P., 2006. Methylrtuť ve vodních ekosystémech. *Vodňany: Bulletin VÚHR*, 42 (3), 117-124 s.

P 22

POROVNÁNÍ SLOŽENÍ A NUTRIČNÍ KVALITY HMYZU ZE SUMATRY A CHOVANÉHO V ČR

Adámková A. (1), Kouřimská L. (1), Borkovcová M. (2)

¹⁾ Katedra kvality zemědělských produktů, ČZU v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchbát

²⁾ Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno

Úvod

Mnoho pokrmů, které se nám Evropanům zdají nepoživatelné, patří ve světě mezi vyhledávané delikatesy. Jedlý hmyz je v různých částech světa běžnou součástí potravy (FAO, 2012, 2013). V Evropě prozatím nemá entomofágie velkou popularitu a jde především o delikatesu a zpestření jídelníčku. Přestože se jedlý hmyz jeví jako alternativní potravina vhodná jak pro speciální, tak pro běžnou výživu, je nutné podrobněji zanalyzovat nutriční parametry jednotlivých druhů jedlého hmyzu, stanovit bezpečnostní rizika a optimalizovat podmínky zpracování a skladování potravin. Nutriční vlastnosti materiálů z jedlého hmyzu jsou závislé na mnoha faktorech – přírodovědný druh, stanoviště chovu, krmivo atd. Z tohoto důvodu se výsledky analýz z různých oblastí chovu mohou lišit.

Článek je zaměřen na porovnání složení a nutričních hodnot jedlého hmyzu ze Sumatry a hmyzu chovaného v ČR. K analýze byly vybrány 3 druhy hmyzu: potěmník brazilský (*Zophobas morio*), potěmník moučný (*Tenebrio molitor*) a cvrček stepní (*Gryllus assimilis*). Byly stanoveny vybrané základní nutriční hodnoty – obsah dusíkatých látek, tuků, cholesterolu, chitinu a profil mastných kyselin.

Materiál a metody

Pro analýzu byly použity následující druhy hmyzu - potěmník brazilský (*Zophobas morio*), potěmník moučný (*Tenebrio molitor*) a cvrček stepní (*Gryllus assimilis*) ve vývojových stádiích vhodných pro kulinářskou úpravu. Uvedené vzorky hmyzu byly zakoupeny u firmy Radek Frýželka, Brno, a dále zpracovány na Mendelově univerzitě v Brně. Vzorky hmyzu byly vyláčněné, usmrcené v horké vodě a následně sušené a homogenizované.

U vzorků byl stanoven obsah dusíkatých látek podle Kjeldahla. Stanovení množství tuku bylo provedeno kontinuální extrakcí podle Soxhleta na přístroji Gerhardt Soxtherm. Následně byly vzorky esterifikovány a bylo provedeno stanovení profilu mastných kyselin pomocí GC/FID (Agilent 7890A). Obsah sterolů byl stanoven podle AOCS Official Method Ch 6-91, American Oil Chemists' Society, USA, 1997.

Výsledky

Stanovení obsahu dusíkatých látek a obsahu tuku ukazují tabulka č. 1 a tabulka č. 2, které uvádí rozdíly u analyzovaných druhů hmyzu u místa chovu na Sumatře a v ČR. Naměřené hodnoty obsahu dusíkatých látek byly v rozmezí od 39 % do 63 %. Naměřené hodnoty tuku byly od 18 % do 35 %. V ČR byla naměřena nižší hodnota než u vzorků ze Sumatry.

Tabulka č. 1: Obsah dusíkatých látek u jednotlivých analyzovaných druhů hmyzu

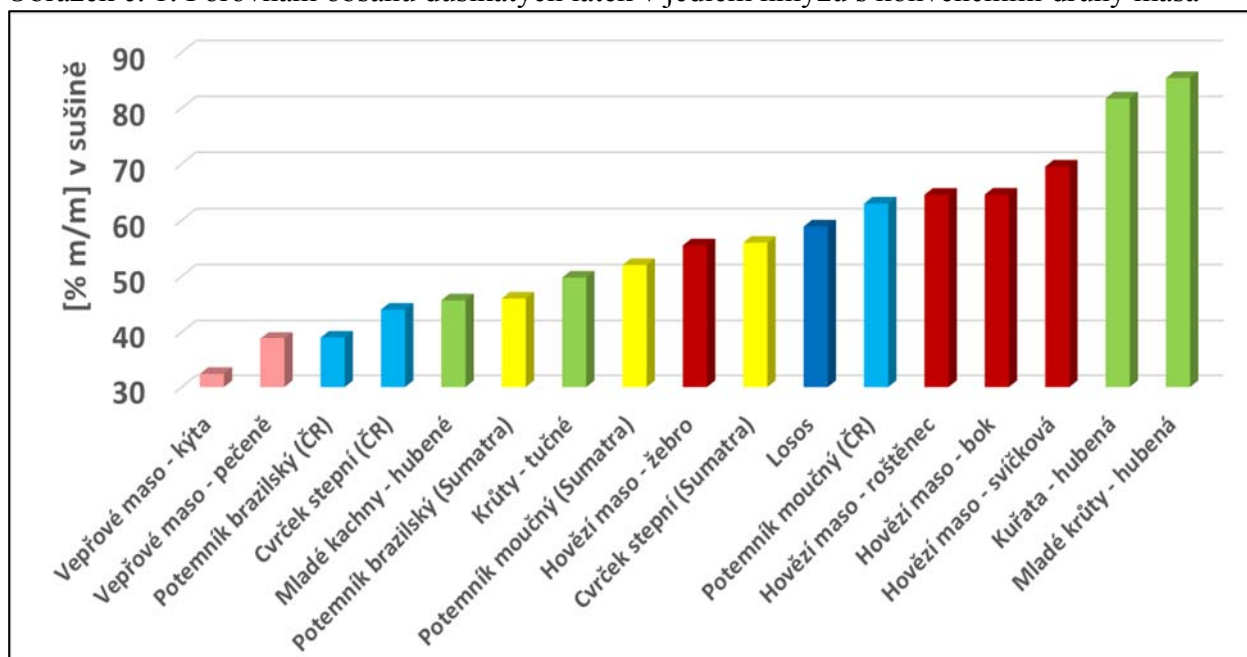
Druh	Místo chovu	
	Sumatra [% m/m]	ČR [% m/m]
Potěmník brazilský - larva	46 ± 1,8	39 ± 0,1
Potěmník moučný - larva	52 ± 0,7	63 ± 0,4
Cvrček stepní - nymfa	56 ± 5,0	44 ± 1,0

Tabulka č. 2: Obsah tuku u jednotlivých analyzovaných druhů hmyzu

Druh	Místo chovu	
	Sumatra [% m/m]	ČR [% m/m]
Potěmník brazilský - larva	35 ± 0,2	32 ± 0,2
Potěmník moučný - larva	31 ± 3,4	---
Cvrček stepní - nymfa	32 ± 0,6	18 ± 0,1

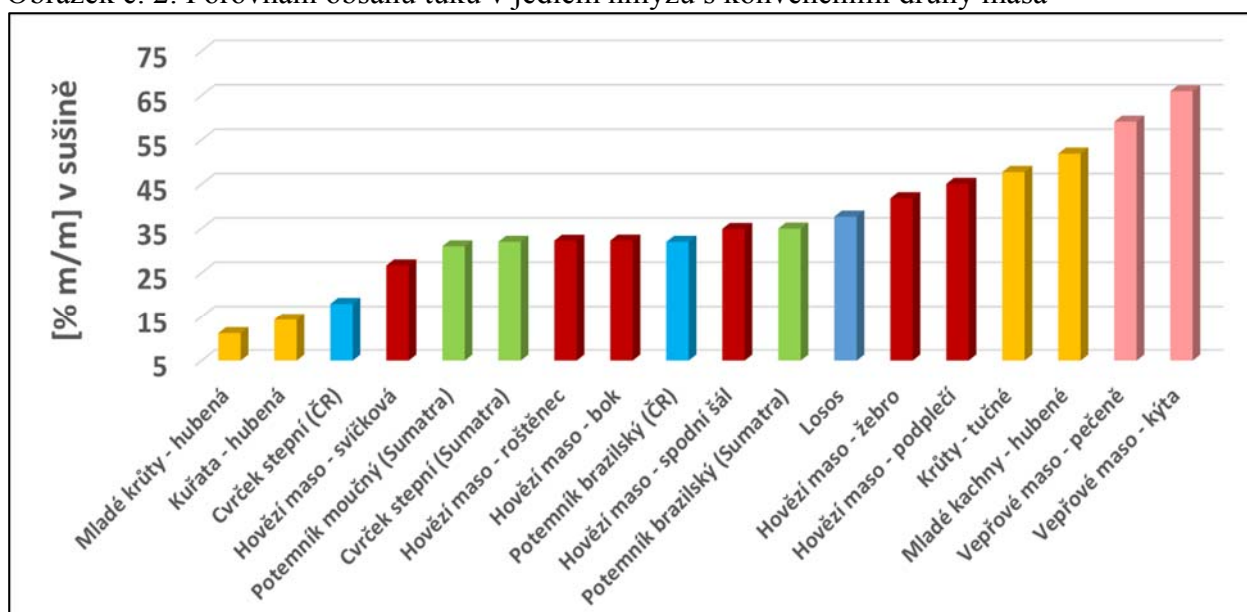
Porovnání obsahu dusíkatých látek v jedlém hmyzu s konvenčními zdroji masa je ukázáno na grafu na obrázku č. 1. Graf na obrázku č. 2 ukazuje porovnání obsahu tuku v jedlém hmyzu s konvenčními druhy masa.

Obrázek č. 1: Porovnání obsahu dusíkatých látek v jedlém hmyzu s konvenčními druhy masa



Zdroj: Pipek, 1995; Steinhauser, 1995

Obrázek č. 2: Porovnání obsahu tuku v jedlém hmyzu s konvenčními druhy masa



Zdroj: Pipek, 1995; Steinhauser, 1995

Naměřené hodnoty obsahu sterolů a obsahu chitinu uvádějí tabulky č. 3 a č. 4. V tabulce č. 3 je opět možné sledovat určité rozdíly mezi místem chovu (Sumatra, ČR).

Tabulka č. 3: Obsah sterolů u jednotlivých analyzovaných druhů hmyzu

Druh	Potemník brazilský - larva	
	Místo chovu	
Steroly	Sumatra [mg/kg]	ČR [mg/kg]
cholesterol	1784 ± 1,7 %	1595 ± 10,3 %
kampesterol	228 ± 8,7 %	169 ± 5,0 %
stigmasterol	79 ± 11,9 %	nekvantifikovatelné
β-sitosterol	344 ± 10,4 %	260 ± 4,5 %

Tabulka č. 4: Obsah chitinu u jednotlivých druhů hmyzu

Druh	Sumatra
Potemník brazilský - larva	6 ± 13,6 %
Potemník moučný - larva	12 ± 2,1 %
Cvrček stepní - nymfa	7 ± 10,1 %

Stanovení profilu mastných kyselin u potemníka brazilského je uvedeno v tabulce č. 5, ze které je možné srovnat hodnoty mezi Sumatrou a ČR pro jednotlivé mastné kyseliny. Z celkového obsahu analyzovaných mastných kyselin tvoří u potemníka brazilského dvě třetiny mastné kyseliny C16:0 a C18:1 (cis-9). Další nejvyšší zastoupení bylo zjištěno u C18:2 (cis-9,12) a to 23 % u vzorků z ČR a 14 % u vzorků ze Sumatry.

Tabulka č. 5: Obsah mastných kyselin u potemníka brazilského (*Zophobas morio*) chovaného v ČR a na Sumatře.

Mastné kyseliny - potemník brazilský			ČR	Sumatra
			[% m/m]	[% m/m]
Nasycené mastné kyseliny				
C8:0	kaprylová	C8:0	0,4	1,4
C10:0	kaprinová	C10:0	0,1	0,2
C12:0	laurová	C12:0	0,1	0,7
C14:0	myristová	C14:0	1,3	2,3
C15:0	pentadekanová	C15:0	0,4	0,1
C16:0	palmitová	C16:0	31,8	28,5
C17:0	heptadecylová	C17:0	0,9	0,2
C18:0	stearová	C18:0	8,0	6,3
C20:0	arachová	C20:0	0,3	0,1
C22:0	behenová	C22:0	0,2	0,0
n-3 nenasycené mastné kyseliny				
C18:3 (cis-9,12,15)	α-linolenová	C18:3n3c	0,6	0,3
n-6 nenasycené mastné kyseliny				
C18:2 (trans-9,12)	linolelaidová	C18:2n6t	0,0	0,1
C18:2 (cis-9,12)	linolová	C18:2n6c	23,0	14,1
C20:2 (cis-11,14)	eikosadienová	C20:2n6c	0,1	0,0
n-9 nenasycené mastné kyseliny				
C18:1 (cis-9)	olejová	C18:1n9c	31,9	44,0
C20:1 (cis-11)	eikosenová	C20:1n9c	0,1	0,0
n-7 nenasycené mastné kyseliny				
C16:1 (cis-9)	palmitoolejová	C16:1n7c	0,6	1,1

Diskuze

Výsledky potvrdily vysokou nutriční hodnotu vybraných druhů jedlého hmyzu, rozdíly mezi jednotlivými přírodovědnými druhy a oblastmi chovu (Sumatra, ČR) a srovnatelnost materiálů z jedlého hmyzu s jinými živočišnými zdroji potravy. Obsah dusíkatých látek se v analyzovaných vzorcích pohyboval od 39 % do 63 %, což je v souladu s literaturou, která uvádí 50,86 % u potemníka moučného (*Tenebrio molitor*) (Bednářová, 2013). Broekhoven a kol. (2015) naměřili obsah proteinu u potemníka moučného (*Tenebrio monitor*) 47 %. Na rozdíl od předchozích autorů,

uvádějí jiní autoři průměrný obsah bílkovin v běžně jedlém hmyzu u čerstvé hmotnosti. Například u larev potměníka brazilského (*Zophobas morio*) uvádí Finke (2002) 19 % bílkovin stejně jako u cvrčka domácího (*Acheta domestica*) (Finke, 2004). Konvenční masové zdroje bílkovin obsahují asi 15 až 22% bílkovin. (Ghaly and Alkoaik, 2009). U hmyzu je běžně uváděno 9 – 25 % bílkovin (Finke, 2004). Druhy s větším zastoupením dusíkatých látek s vhodným složením aminokyselin by se mohly využít pro speciální výživu, např. pro sportovce.

Největší obsah tuků ze změřených vzorků měl potměník brazilský (larva) s naměřenou hodnotou 35 %, který může být ve výživě vhodným zdrojem energie. Broekhoven a kol. (2015) uvádějí obsah tuku 25% pro potměníka moučného (*Tenebrio Molitor*), která je srovnatelná s námi naměřenou hodnotou 31 %.

Z analýzy profilu mastných kyselin vyplynulo, že z nasycených mastných kyselin je nejvíce zastoupená palmitová kyselina. Z nenasycených mastných kyselin obsahuje analyzovaný druh potměník brazilský (*Zophobas morio*) olejovou a linolovou kyselinu, která se z nutričního hlediska řadí mezi esenciální kyseliny a je důležitá pro další fyziologické pochody. V porovnání s Bednářovou (2013) bylo zjištěno, že pořadí prvních čtyř mastných kyselin od největšího obsahu k nejmenšímu je u potměníka brazilského (*Zophobas morio*) shodné s výsledky uvedenými v této práci. Srovnání ostatních mastných kyselin není možné z důvodu rozdílného standardu.

U vzorků ze Sumatry i z ČR byly analyzovány steroly. Ve vzorcích jsou kromě cholesterolu i fytosteroly (kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol). Obdobně jako koryši obsahuje hmyz chitin, který je z nutričního hlediska důležitý pro metabolismus tuků, cukrů a jako živočišná vláknina je důležitý pro peristaltiku střev. Na druhou stranu stejně jako u koryšů může vyvolat alergické reakce (Bednářová, 2013).

Závěr

Práce byla zaměřena na porovnání složení a nutričních hodnot jedlého hmyzu ze Sumatry a hmyzu chovaného v ČR. U analyzovaných druhů potměník brazilský (*Zophobas morio*), potměník moučný (*Tenebrio molitor*) a cvrček stepní (*Gryllus assimilis*) byly stanoveny vybrané základní nutriční hodnoty (obsah dusíkatých látek, tuků, cholesterolu, chitinu a profil mastných kyselin). Zjištěné nutriční hodnoty byly statisticky zpracovány a následně porovnány s ostatními druhy potravin živočišného původu.

Hodnoty z měření u analyzovaných vzorků jsou v obsahu tuků a dusíkatých látek srovnatelné s hovězím masem. Je předpoklad, že jedlý hmyz by v budoucnosti mohl být cenným nutričním zdrojem.

Použitá literatura

- Bednářová, M.: Možnosti využití hmyzu jako potravin v podmínkách České republiky. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav Zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, 2013.
- van Broekhoven S. a kol.: Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology*, 2015, 73: 1-10.
- FAO: Assessing the Potential of Insects as Food and Feed in assuring Food Security. 2012.
- FAO: Edible insects: Future prospects for food and feed security. 2013.
- Finke, M. D.: Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 2002, 21: 269-285.
- Finke, M. D.: Nutrient content of insects. *Encyclopedia of Entomology*, Springer, 2004. doi: 10.1007/0-306-48380-7_2920
- Ghaly, A. E., Alkoaik, F. N.: The yellow mealworm as a novel source of protein. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 2009, 4: 319 - 331.
- Pipek, P.: Technologie masa I. VŠCHT Praha 1995, 334s. ISBN 80-7080-174-3.
- Steinhauser, L. a kol.: Hygiena a technologie masa. LAST 1995, 664 s. ISBN 80-900260-4-4.

P 23**VLIV STUPNĚ MĚLNĚNÍ A VOLBY OBALU NA JAKOSTNÍ PARAMETRY U PAŠTIK**

Jůzl M. (1), Kalhotka L. (2), Jahodová H. (1), Burdová E. (2)

(1) Ústav technologie potravin, AF MENDELU

(2) Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, AF MENDELU

V experimentu byly hodnoceny rozdíly v jakostních parametrech paštik po výrobě a během skladování. Byly zvoleny dva stupně mělnění (hrubá, jemná) a obalu (sklo, plastové střevo). V rámci mikrobiologických analýz byly v průběhu skladování ve vzorcích paštik standardními postupy stanovovány celkový počet mikroorganismů, termorezistentní mikroorganismy anaerobní, enterokoky, koliformní bakterie, kvasinky a plísňe. Z výsledků je patrné, že celková mikrobiální kontaminace byla v průběhu skladování relativně nízká. Celkový počet mikroorganismů dosáhl řádově maximálně 10(3) KTJ.g-1. U první šarže výrobků byly zjištěny na konci sledování i vyšší počty enterokoků řádově 10 (2) KTJ.g-1 a koliformních bakterií řádově 10(3) KTJ.g-1. U druhé šarže tomu tak nebylo. Výsledky rovněž ukazují, že vyšší celkové počty mikroorganismů (CPM) byly zjišťovány u paštik balených do plastového obalu než u paštik balených do skleněných obalů. Senzorické parametry jakosti se v průběhu času skladování průkazně neměnily. Změna barvy dE*ab byla na hranici postřehnutelné lidským okem.

P 24**OBSAH ALKALICKÝCH PRVKŮ A FOSFORU V MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH NA ČESKÉM TRHU**

Revenco D., Fongusová A., Koplík R.
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Úvod

Fosfor je v lidském těle po vápníku druhým nejhojnějším minerálním prvkem. Lidské tělo obsahuje přibližně 560 až 850 g fosforu, což představuje asi 0,8-1,2 % tělesné hmotnosti. Z celkového fosforu v těle je 85 % obsaženo v kostech a zubech, 1 % je v krvi a v tělních tekutinách a zbývajících 14 % připadá na měkké tkáně [1]. Fosfor je jako mikronutrient nezbytný pro mnoho funkcí v tělesných tkáních. Jeho sloučeniny jsou důležitým faktorem v buněčné energetice, zejména při tvorbě makroergických vazeb v ATP a dalších látkách, které slouží ke skladování a přenosu chemické energie [2]. Fosfor je také obsažen v nukleotidech a nukleových kyselinách, které zajišťují uložení a expresi genetické informace. Sloučeniny fosforu se tedy účastní prakticky všech metabolicky významných dějů. Dále udržují stabilní pH vnitřního prostředí organismu, mají vliv na tvorbu biologických membrán a účast na stavbě kostí.

Dietární příjem fosforu a alkalických prvků je v naší populaci většinově dostatečný, přičemž dávky sodíku jsou dokonce výrazně nadbytečné. Vysoký příjem chloridu sodného v naší stravě představuje zdravotní riziko i pro jedince zatím zdravé. Podstatně závažnější jsou nadbytečné dávky alkalických kovů a fosforu u osob s omezenou funkcí ledvin. Zejména pro pacienty, u kterých již došlo k selhání ledvin a kteří jsou léčeni hemodialýzou, jsou vyšší dávky alkalických kovů a fosforu nebezpečné.

Chronické onemocnění ledvin je velmi rozšířené a pro pacienty má závažné zdravotní důsledky. Péče o vhodnou výživu je v tomto případě důležitá a má potenciál výrazně zlepšit stav pacientů. Při postupujícím úpadku funkce ledvin se snižuje eliminace fosfátů, v séru se vytvářejí komplexy hydrogenfosfátu a vápníku, a vznikající fosforečnan vápenatý se ukládá v různých vnitřních orgánech, v cévách a v měkkých tkáních [3]. Vysoké hladiny fosforečnanů v krevním séru v důsledku vyššího příjmu fosforu jsou nezávislým prediktorem mortality u těchto pacientů. Proto je sledování množství fosforu ve stravě těchto pacientů důležité.

Experimentální část

V této fázi sledování prvkového složení potravin bylo vybráno 26 balených potravin ze skupiny mléčných výrobků dostupných na trhu v ČR. Výrobky pocházely od domácích i zahraničních výrobců a u všech byl na obalu deklarován obsah základních živin a použité suroviny včetně případných přídatných látek. Všechny tyto údaje byly zaznamenány.

Pro stanovení sodíku, draslíku, hořčíku a vápníku byly vzorky připraveny mikrovlnným tlakovým rozkladem kyselinou dusičnou. Získané mineralizáty byly před měřením patřičně ředěny v 10 ml odměrných baňkách. Současně bylo k roztokům pro stanovení sodíku a draslíku přidáváno deionizační činidlo (CsCl) v takovém množství, aby výsledná koncentrace Cs ve zředěných vzorcích činila 2 mg/ml. Pro stanovení hořčíku a vápníku byl při ředění vzorků k alikvotnímu podílu přidáván Schinkelův roztok (uvolňovací a deionizační činidlo obsahující chlorid lanthanitý a chlorid cesný) v takovém množství, aby výsledná koncentrace La ve zředěných vzorcích činila 10 mg/ml.

Celkové obsahy Na, K, Mg a Ca ve vzorcích byly stanoveny plamenovou atomovou absorpční spektrometrií na přístroji Avanta P (GBC Scientific, Dandenong, Austrálie) [4].

Pro přípravu vzorků ke spektrofotometrickému stanovení fosforu byl použit rozklad na mokré cestě za atmosférického tlaku. Byla použita směs kyselin: 10 ml 65 % HNO₃, 5 ml 96 % H₂SO₄ a 0,5 ml 70 % HClO₄. Rozklad probíhal při teplotách 60 až 200 °C zhruba po dobu 60-80 hodin (do úplného vyčištění a odbarvení mineralizátu). V alikvotním podílu zředěného

mineralizátu byla vyvolána barvotvorná reakce (vznik molybdenové modři) přidavkem roztoků molybdenanu amonného a síranu železnato-amonného, přičemž koncentrace kyseliny sírové ve směsi byla ředěním upravena na cca 0,5 mol/l. Koncentrace fosforu byly určeny měřením absorbance při 700 nm a odečtením z kalibrační křivky. K měření byl použit UV/VIS spektrofotometr Cary 60 (Agilent).

Výsledky a diskuse

Celkem bylo analyzováno 26 vzorků různých mléčných výrobků. Výsledky jsou uspořádány do několika skupin v tabulkách 1-4 v souladu s klasifikací potravin uvedené v knize Potravinářské zbožíznalství [5].

Pokud jde o obsah fosforu a vápníku v mléce, výsledky ukazují, že při vyjádření hmotnostním zlomkem obsah vápníku mírně převyšuje obsah fosforu. Kravské mléko je jednou z mála potravin, u kterých je obsah vápníku vyšší než obsah fosforu. Nicméně při přepočtu na látkové množství je fosfor v převaze (molární poměr P/Ca = 1,18). Z alkalických prvků je nejvíce zastoupen draslík, což odpovídá údajům z literatury [6,7]. Obsah hořčíku v mléce je nízký. Fosfor je v mléce převážně vázán na bílkoviny [6], takže v tukovém podílu mléka je obsaženo jen malé množství.

Z hlediska výživy pacientů s chorobami ledvin se jeví skupina tvarohů, měkkých přírodních sýrů a syrovátkových sýrů velmi výhodná vzhledem k nízkému obsahu celkového fosforu a vzhledem k velmi příznivým nízkým hodnotám kvocientu P/bílkovina. Pacientům léčeným hemodialýzou je totiž nutné zajistit, vzhledem ke ztrátám aminokyselin při dialýze, vyšší dávky bílkovin a současně nízké dávky fosforu. Ve skupině polotvrdých a extra tvrdých sýrů je obsah fosforu v celém vzorku vyšší než u předchozí skupiny, ale obsah v sušině je srovnatelný a pohybuje se od 366 mg/100 g suš. do 1100 mg/100 g suš. Ve srovnání s měkkými sýry obsahují polotvrdé a extra tvrdé sýry mnohem více vápníku. Tvrdé sýry by tedy neměly v celkovém denním příjmu bílkovin přesáhnout jednu pětinu. U výrobků ze skupiny tavených sýrů a jejich imitací byly ve všech případech použity jako tavící soli přídatné látky obsahující fosfor, což znamená, že tavené sýry jsou jako složka stravy pro pacienty s chorobami ledvin zcela nevhodné.

Tab. 1 Tvarohy, měkké přírodní sýry a syrovátkové sýry

Vzorek	Sušina (%)	Bílk. (%)	Obsah prvku (mg/kg)				
			P	Na	K	Mg	Ca
Tvaroh měkký	16,0	12,0	1568	377	1580	108	1191
Tvaroh tučný	22,0	9,6	1284	317	1307	86	923
Lučina, smetanový terminovaný sýr	36,0	7,3	1068	2046	1079	96,9	780
Gervais original, krémový tvarohový sýr	25,5	6,0	848	2555	855	51	647
Almette, tvarohový sýr smetanový	32,0	7,0	994	2092	1260	75,3	892
Mozzarella Galbani	38,5	18,0	2046	1704	334	87,7	2483
Ricotta, čerstvý syrovátkový sýr	32,0	9,9	1484	1443	1236	271	2055
Ricotta, ITALAT CZ	21,0	9,0	642	878	1005	57,8	683

Tab. 2 Polotvrdé a extra tvrdé přírodní sýry

Vzorek	Sušina (%)	Bílk. (%)	Obsah prvku v mg/kg				
			P	Na	K	Mg	Ca
Sýr Feta	56,0	15,7	2051	8467	576	133	2084
Gouda K-Classic, plátky	55,0	25,0	4735	5414	606	224	6292
Leerdammer original plátky	58,0	27,0	5590	7313	689	269	7853
A British Classic Mild Cheddar	61,0	31,6	5094	8391	817	273	6986
Primátor, sýr emetálského typu	60,0	28,2	6453	3089	710	282	8823
Ementál Président	60,0	29,0	5532	753	891	327	9121
Caciotta stagionata	55,3	28,1	4500	5820	1290	277	7160
Parmigiano Reggiano	68,0	33,0	7546	6301	806	327	9511

Tab. 3 Tavené sýry a náhražky taveného sýra

Vzorek	Sušina (%)	Bílk. (%)	Obsah prvku (mg/kg)				
			P	Na	K	Mg	Ca
Primátor, tavený sýr, Madeta	49,0	14,8	12448	11357	631	215	6487
Veselá kráva, tavený sýr	39,0	11,0	9162	5980	2354	366	6077
Smetanito, tavený sýr	34,0	9,5	6729	7731	1869	153	3001
Želetava Active, tavený sýr	31,0	13,0	6567	9061	1859	189	3398
Javor, jemný tavený s rostlinným tukem	38,0	7,9	6773	7918	2634	165	2234

Tab. 4 Mléko a výrobky, které nepatří do skupin 1-3

Vzorek	Sušina (%)	Bílk. (%)	Obsah prvku (mg/kg)				
			P	Na	K	Mg	Ca
Mléko polotučné, Madeta	9,3	3,2	921	354	1470	87,1	1008
Tatra Classic, zahuštěné neslazené plnotučné mléko	25,0	6,7	1816	730	2825	173	1988
Hermelín Král sýrů	48,0	20	3783	7967	845	168	4579
Selský jogurt	11,2	3,5	942	429	1576	85,1	1048
Jihočeské máslo, Madeta	84,0	0,75	201	61,1	204	15,6	121

Závěr

Ledviny zdravého člověka mohou díky hormonální regulaci do značné míry měnit míru vylučování elektrolytů z krevní plasmy podle potřeby, tj. podle okamžité hladiny jednotlivých prvků. Alkalické kovy se ze stravy vstřebávají velmi snadno, fosfor dosti snadno. Proto je regulace jejich hladiny v potravinách téměř výhradně zajišťována na straně vylučování z těla. Jenomže pacienti s chorobami ledvin mají tuto funkci do značné míry omezenou nebo v krajních případech (dialýza) jim tato funkce zcela chybí. Proto je výběr vhodných potravin zcela nezbytný.

Obsah fosforu a alkalických prvků v mléčných výrobcích je především ovlivněn výchozí surovinou, technologickými podmínkami a případným použitím přídatných látek a soli. Výsledky naznačují, že při výrobě sýrů kyselou precipitací kaseinové frakce bílkovin se vznikající tuhá bílkovinná hmota ochuzuje o vápník, zatímco obsah fosforu je zachován nebo se snižuje jen mírně. To se týká především tvarohu a sýrů vyrobených z tvarohu. Naproti tomu u sýrů, při jejichž výrobě se používá precipitace syřidlem, zůstává zhruba zachován přibližně jednotkový molární poměr P/Ca z výchozího mléka.

Z hlediska hodnoty kvocientu P/bílkovina se jeví pro pacienty s chorobami ledvin jako vhodné mléčné výrobky tvarohy, měkké sýry a některé syrovátkové sýry. Rovněž polotvrdé a extra tvrdé sýry jsou vydatným zdrojem živin při poměrně nízkém kvocientu P/bílkovina. Pacienti by si však měli vybírat především ty druhy sýrů, které mají nižší obsah soli (Ementál). Naopak za zcela nevhodné k výživě pacientů s chorobami ledvin lze označit tavené sýry.

Literatura

1. Gropper, S.; Smith, J. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*, 6th ed.; Cengage Learning: Belmont, CA, 2012.
2. Macrae, R., Robinson, R. K., Sadler, M. J., Eds. *Encyclopaedia of Food Science Food Technology and Nutrition*; Academic press limited: London, 1993.
3. Noori, N.; Sims, J.J.; Kopple, J.D.; Shah, A.; Colman, S.; Shinaberger, C.S.; Bross, R.; Mehrotra, R.; Kovesdy, C.P.; Kalantar-Zadeh, K. Organic and inorganic dietary phosphorus and its management in chronic kidney disease. *Iranian Journal of Kidney Diseases* **2010**, 4 (2), 89–100.
4. Rowe, C.J. *Food Analysis by Atomic Absorption Spectroscopy*. Firemní literatura; Varian Techtron, Springvale 1973.
5. Dostálová, J.; Kadlec, P. a kol. *Potravinářské zbožíznalství* 1. vydání; Key Publishing: Ostrava, 2014.
6. Velíšek, J., *The Chemistry of Food*; Wiley: 2014.
7. Koivistoinen P. et al. Mineral Element Composition of Finnish Foods: N, K, Ca, Mg, P, S, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, Co, Ni, Cr, F, Se, Si, Rb, Al, B, Br, Hg, As, Cd Pb and Ash. *Acta Agric. Scand Suppl.* 22, **1980**. ISSN 0065-0943.

P 25

ALPHATEC- BEZPEČNÝ A MODERNÍ ZPŮSOB PROVEDENÍ STANDARDNÍ METODY PRO STANOVENÍ PÁDOVÉHO ČÍSLA

Fleglová I.
MILCOM servis a.s.

Bezpečný a moderní způsob provedení standardní metody pro stanovení pádového čísla. Tato metoda určuje tzv. porostlost zrn obilí a stanoví enzymatickou aktivitu mouky. Je kladen vysoký důraz na bezpečnost práce – chlazení přístroje zabraňuje případným popáleninám vynikající při manipulaci s přístrojem. Uživatelsky přívětivé rozhraní a dotyková obrazovka umožňuje velmi jednoduché ovládání přístroje. Toto moderní řešení je založeno na nové technologii vývoje a rozsáhlých zkušenostech s automatizací laboratorních rozborů fa. FOSS.

FOSS
Dedicated Analytical Solutions





Alphatec™ FN2

Uživatelsky přívětivé rozhraní a dotyková obrazovka umožňuje velmi jednoduché ovládání přístroje. Toto moderní řešení je založeno na nové technologii vývoje a rozsáhlých zkušenostech s automatizací laboratorních rozborů fa. FOSS.

Bezpečný a moderní způsob provedení standardní metody pro stanovení pádového čísla.



Tato metoda určuje tzv. porostlost zrn obilí a stanoví enzymatickou aktivitu mouky.

Referenční metody:

- ▶ AACC/No. 56-81B (1972),
- ▶ ISO/No. ISO/DIS 3093 (2009)
- ▶ ASBC Barley 12-A



Je kladen vysoký důraz na bezpečnost práce – chlazení přístroje zabraňuje případným popáleninám vynikající při manipulaci s přístrojem.

Kontakt:
MILCOM servis, a.s.
Hostivařská 538/56
102 00 Praha 10, ČR
www.milcomservis.cz

P 16

ANALÝZA LIPIDICKÉ FRAKCE PLODNIC VYBRANÝCH HUB

Hauser J., Pudil F., Ilko V., Doležal M.

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}

Je známo, že houby jsou potraviny s nízkou kalorickou hodnotou, které obsahují malé množství tuků (1,5 - 5 % v sušině). Houby obsahují v průměru okolo 90 % vody, ostatní složky jsou značně proměnlivé; dále v sušině je 4 - 30 % bílkovin, okolo 60 % sacharidů a 4 - 12 % minerálních látek. Chemické složení jednotlivých druhů hub je velice závislé na klimatu, na stanovišti kde se nachází atd.. Pro člověka mají houby kulinářský nebo i lékařský význam.^{1,3,4,5}



Obr. 1: Analyzované druhy vyšších hub na svém přirozeném stanovišti.^{1,2} převzato a upraveno

Čirůvka fialová (*Lepista nuda*) je podzimní jedlou houbou z čeledi čirůvkovitých viz Obr. 1, která se vyskytuje v listnatých i jehličnatých lesích, na loukách, v zahradách apod. Plodnice čirůvky jsou za syrova či nedostatečně tepelné úpravě jedovaté a mohou způsobit hemolýzu. Za hemolýzu mohou toxiny (hemolysin), které rozkládají červené krvinky. Avšak tyto toxiny se teplem rozkládají a proto jsou vařené plodnice neškodné. Dále plodnice čirůvky fialové obsahují vitamin B₁, triterpenoidy, steroly. Její roztok (infuze) se používá k prevenci nemoci beri-beri, zatímco odvar se používá k léčbě abscesů a ran. Dále bylo odhaleno, že methanolický extrakt čirůvky má antimikrobiální a antioxidační vlastnosti.^{1,6}

Krásnoporka hřebenitá (*Albatrellus cristatus*) je z čeledi krásnoporkovitých, která roste v listnatých lesích, a to hlavně v bučinách viz Obr. 1. Pro krásnoporku je charakteristické, že v dospělosti je hořká, a proto se konzumují jen mladé plodnice.¹

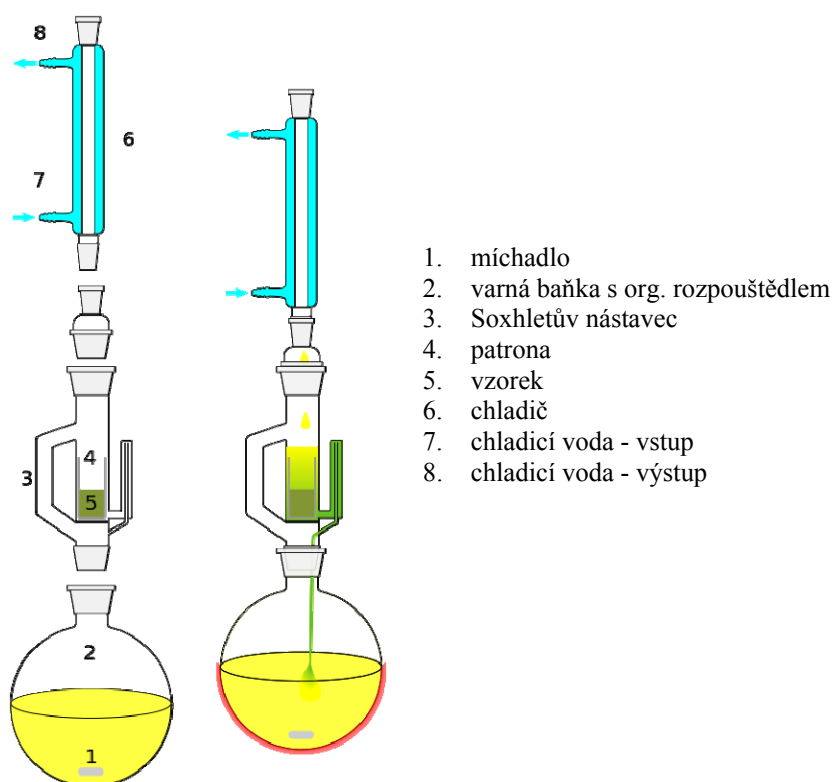
Pestřec obecný (*Scleroderma citrinum*) je jedovatá houba z čeledi pestřecovitých viz Obr. 1. Roste prakticky v celém mírném pásu a severní a jižní Africe. Pro pestřec je charakteristický silný zemitý kovový pach. I přesto, že je pestřec obecný považován za jedovatou houbu, v malém množství se používá jako chutné houbové koření (přibližně jeden až dva plátky na osobu). I pak se však doporučuje plátky nejíst a z jídla je raději odstranit. Otrava se projeví po 1-2 hodinách tlakem, později bolestmi v žaludku, končícím zvracením, někdy i průjmy. Může být přítomno bolení hlavy, pocit opojení, mlhavé vidění, pocení nebo poruchy dýchání.¹

Smrž pražský (*Morchella pragensis*) je vřeckovýtrusná houba z čeledi smržovitých, viz Obr. 1. Roste zpravidla na stanovištích ovlivněných člověkem, na rumišťích, záhonech, často na mulčovaném povrchu, v parcích aj. Smrž je jedlý a výborný, ale snadno dochází k jeho záměně s ostatními druhy smržů, které jsou též jedlé.^{1,2}

Materiál a metody

K analýzám byly použity lyofilizované vzorky hub z roku 2014, které byly sebrány v Brdech. Smrž pochází ze zahrady paní Lukešové (Strakonice - šumavská kůra).

Lyofilizovaný materiál byl rozemlet na prášek a poté byl spolu s mořským pískem (2 g) homogenně rozmíchán. Tato směs byla vložena do extrakční patrony, která byla zaplněna do $\frac{3}{4}$ své výšky a na konci uzavřena vatou. Extrakční patrona byla vložena do Soxhletova přístroje (viz. Obr. 2). Extrakce tuků byla prováděna petroletherem po dobu 8 h. Celkový obsah tuků v houbách byl stanoven gravimetricky po odpaření rozpouštědla.



Obr. 2: Soxhletova aparatura k stanovení celkového tuku.

Pro přípravu methylesterů byl do 50 ml varné baňky kvantitativně převeden extrahovaný tuk. Pipetou bylo přidáno 5 ml methanolu, 2 ml hydroxidu sodného (0,5M NaOH v MeOH) a varný kamínek. Po dobu 15 minut byla směs vařena pod zpětným chladičem. Pokud se na hladině i po vaření objevovaly tukové kapičky, byl přidán 1 ml NaOH a směs byla zahřívána dalších 5 minut. Následně bylo přidáno 0,5 ml 10% roztoku BF_3 v methanolu přes chladič a směs byla vařena 7 minut. Baňka byla zchlazena na laboratorní teplotu. Válečkem bylo přes chladič přidáno 2 ml hexanu. Po odkapání hexanu byla baňka odpojena od chladiče a válečkem se přidalo 20 ml nasyceného roztoku chloridu sodného. Vzniklá směs byla 60 vteřin třepána. Poté byla baňka doplněna nasyceným roztokem chloridu sodného po hrdlo a po oddělení vrstev byla horní hexanová vrstva převedena do vialky s malým množstvím bezvodého síranu sodného. Methylestery mastných kyselin (FAME) z jednotlivých hub byly analyzovány pomocí GC/FID a GC/MS.

Analýza FAME proběhla na přístroji GC/FID s ručním nástřikem. Analýza probíhala na kapilární koloně SPTM-2560 (100 m x 0,25 mm x 0,2 μm). Nosným plynem bylo helium a průtok plynu činil 0,8 ml/min. Vzorek byl nástřikován ve split režimu (75:1) a teplota injektoru byla 220 °C. Objem nástřikovaného vzorku byl 1 μl . Dále byla u kolony naprogramována teplota (175 °C), izotermicky po dobu 3 min, 1 °C/min do 220 °C a teplota 220 °C byla udržována po dobu 30 min.

Výsledky z GC/FID byly získány metodou vnitřní normalizace. K identifikaci jednotlivých mastných kyselin byl použit standard Supelco 37 Component FAME mix. Procenta plochy píků

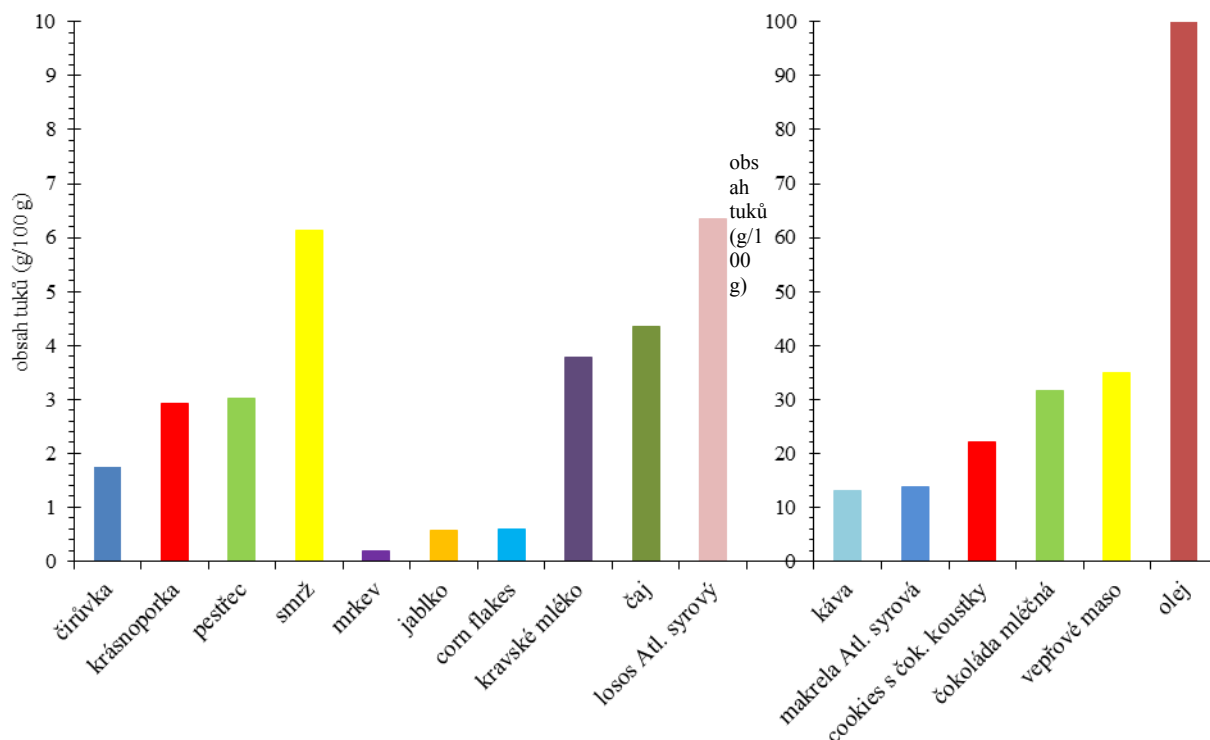
jednotlivých mastných kyselin z celkové plochy všech piků vyjadřovala obsah zastoupení methylesterů mastných kyselin.

Stejně vzorky byly dále analyzovány na přístroji GC/MS s ručním nástřikem a byla zde použita elektronová ionizace (EI). Analýza probíhala na kapilární koloně HP-INNOWax Polyethylene Glycol (30 m x 250 μ m x 0,25 μ m). Nosným plynem bylo helium a průtok plynu činil 1 ml/min. Vzorek byl ručně nastříkán (1 μ l) v splitless režimu a teplota injektoru byla 220 °C. Teplota kolony byla naprogramována na teplotu 100 °C a byla ponechána po dobu 3 min, následně gradientem 5 °C/min do teploty 200 °C, pak ještě 10 °C/min do 240 °C a teplota 240 °C byla udržována po dobu 30 min. Teplota na rozhraní mezi kolonou a detektorem byla 230 °C. Na MS bylo nastaveno plné skenování EI hmotnostního spektra rozsahu 27 – 350 m/z s rychlostí 2,27 scan/s, která byla zaznamenána při 70 eV.

Výsledky a diskuse

Lipidy patří k významným složkám potravin a ve výživě člověka tvoří jednu z hlavních živin nezbytnou pro zdraví a vývoj organismu. Jejich hlavní funkce v organismu je zdroj a zásobárna energie v potravě, tvoří stavební složku buněk. Dále nás chrání před úniky tepla, umožňují vstřebávání vitamínů, a z tuků se tvoří některé hormony.^{7, 8, 9, 10}

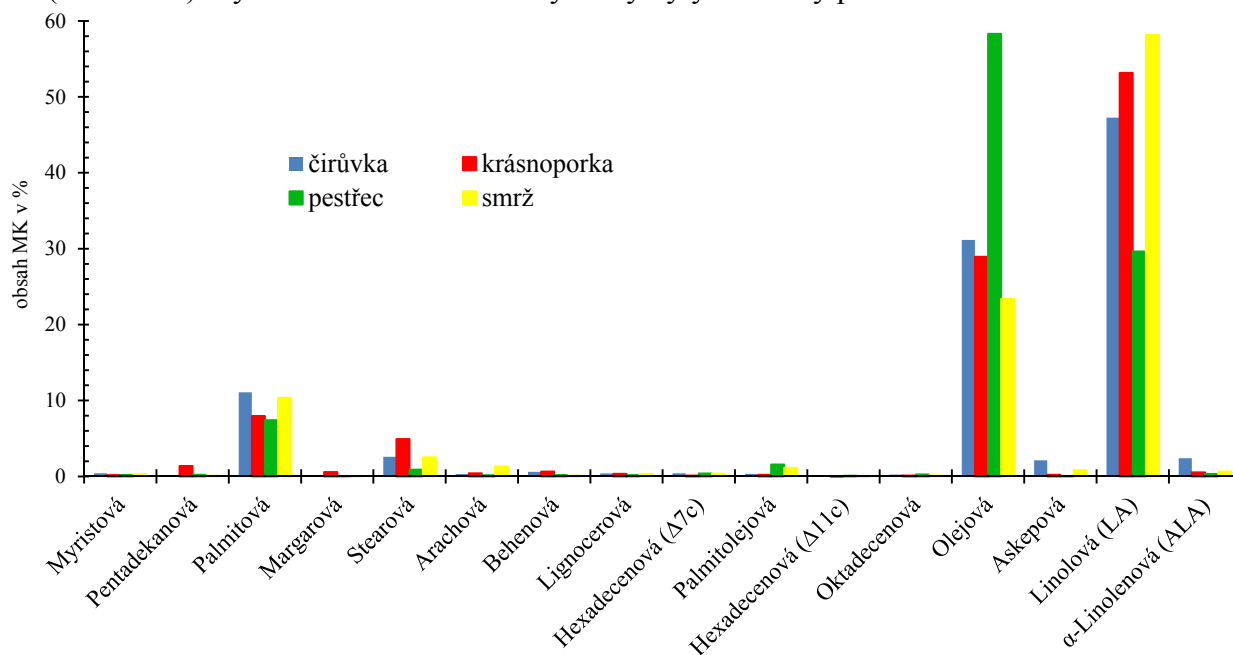
Celkový obsah tuků v analyzovaných druzích hub byl v rozmezí 1 - 6 g/100 g hub (vyjádřeno na sušinu). Což potvrzuje to, že houby nejsou moc tučné a dále je vidět, že existuje také rozdílnost obsahu tuku mezi jednotlivými druhy hub. Z porovnání celkového obsahu tuku s ostatními potravinami (viz. Obr. 3), houby zauímají střední oblast spolu s lososem, kravským mlékem nebo čajem.



Obr. 3: Porovnání celkového obsahu tuku (vyjádřeno na sušinu) v analyzovaných hub s některými potravinami.

Výsledky jednotlivých analyzovaných mastných kyselin, nasycených mastných kyselin (SFA), mononenasycených mastných kyselin (MUFA), a polynenasycených mastných kyselin (PUFA) analyzovaných hub jsou uvedeny na Obr. 4 a Obr. 5. Hlavní mastné kyseliny nalezené v analyzovaných vzorcích byly kyselina linolová (C18:2 Δ 6), a kyselina olejová (C18:1 Δ 9), následované kyselinou palmitovou (C16:0). To je v souladu s dostupnou literaturou, která se touto problematikou zabývala.^{5, 6, 9, 11}

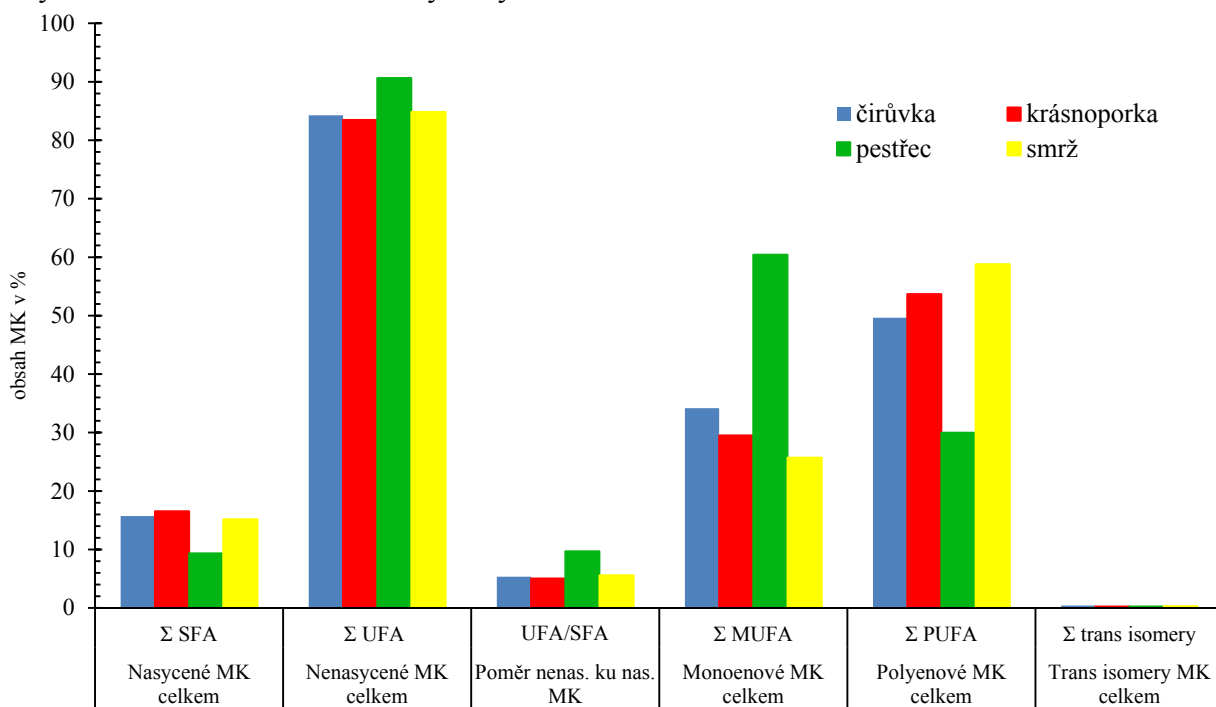
Kromě tří hlavních mastných kyselin bylo identifikováno a kvantifikováno dalších 17 mastných kyselin (viz Obr. 4). Tyto detekované mastné kyseliny byly nalezeny pouze v malém množství.



Obr. 4: Obsah některých vybraných mastných kyselin z analyzovaných hub. (Δ značí pozici dvojné vazby v řetězci)

Z pohledu aroma hub je důležité množství linolové kyseliny, která je prekurzorem houbového alkoholu, 1-okten-3-olu. Tento alkohol spolu s dvěma příslušnými C₈ ketony (1-okten-3-on, 3-oktanon), tvoří hlavní složku těkavých látek a jsou považovány za hlavní přispěvatele houbového aroma a příchutě.

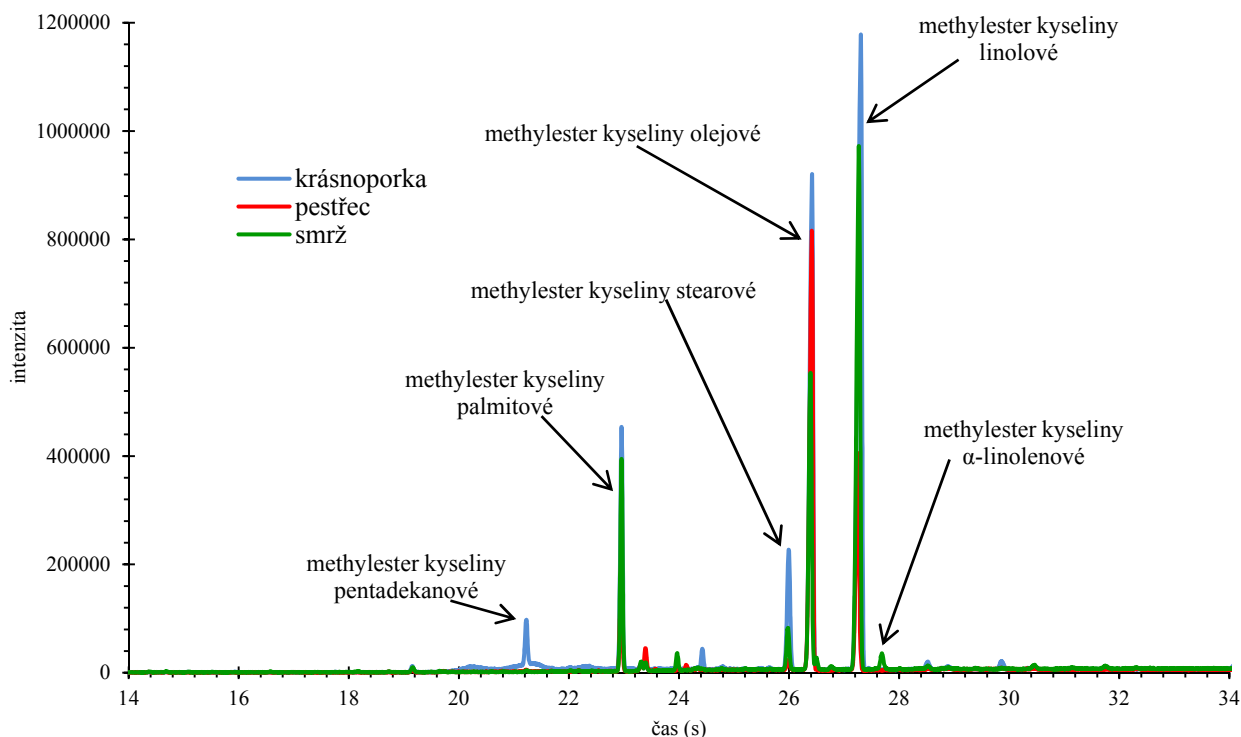
Celkový obsah nenasycených mastných kyselin (UFA) převažuje nad celkovým obsahem SFA pro všechny analyzované druhy hub, v rozmezí od 66,9 % do 81,3 %, viz Obr. 5. Tento jev je v souladu s dostupnou literaturou ^{5, 6, 9, 11}, že v houbách převažují nenasycené mastné kyseliny nad nasycenými v celkovém obsahu mastných kyselin.



Obr. 5: Obsah mastných kyselin v analyzovaných houbách.

V roce 2003 světová zdravotnická organizace (WHO) doporučila, aby příjem *trans* mastných kyselin (TFA) ze stravy nepřekročil 1 % celkového energetického příjmu (denního příjmu).¹² Analyzované druhy hub obsahovaly jen stopová množství *trans* isomerů MK a to okolo 0,31 %. Toto doporučení analyzované druhy hub nepřekročily (jejich příspěvek do celkového denního příjmu by byl okolo 0,045 ‰ celkového energetického příjmu).

Obr. 6 ukazuje záznam z GC/MS analýzy methylesterů mastných kyselin z vybraných hub.



Obr. 6: Záznam GC/MS analýzy methylesterů mastných kyselin v analyzovaných hub.

Závěr

Houby obsahují malá množství tuků v rozmezí 1 - 6 g/100 g vzorku, a proto mohou být použity v nízkokalorických dietách pro jejich nízký obsah tuku a energie. Profil mastných kyselin analyzovaných hub nám ukázal, že houby jsou více příbuzné s rostlinami než se živočichy.

Významný je vysoký obsah kyseliny linolové, která je prekurzorem houbového alkoholu (1-okten-3-olu).

Lipidická frakce analyzovaných hub je ve složení hlavních mastných kyselin podobná rostlinným olejům.

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. Pereira, E.; Barros, L.; Martins, A.; Ferreira, I. C. F. R. Towards chemical and nutritional inventory of Portuguese wild edible mushrooms in different habitats. *Food Chem.* **2012**, *130*, 394–403.
4. Barros, L.; Cruz, T.; Baptista, P.; Estevinho, L. M.; Ferreira, I. C. F. R. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, *46*, 2742–2747.
5. Heleno, S. A.; Barros, L.; Sousa, M. J.; Martins, A.; Ferreira, I. C. F. R. Study and characterization of selected nutrients in wild mushrooms from Portugal by gas chromatography and high performance liquid chromatography. *Microchem. J.* **2009**, *93*, 195–199.

6. 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.
7. Velíšek, J.; Hajšlová, J. *Chemie potravin I.*, 3rd ed.; OSSIS: Tábor, 2009.
8. Elmastas, M.; Isildak, O.; Turkekul, I.; Temur, N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis* **2007**, *20*, 337–345.
9. Barros, L.; Baptista, P.; Correia, D. M.; Casal, S.; Oliveira, B.; Ferreira, I. C. F. R. Fatty acid and sugar compounds, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chem.* **2007**, *105*, 140–145.
10. Morrison, W. R.; Smith, L. M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* **1964**, (5), 600–608.
11. Kavishree, S.; Hemavathy, J.; Lokesh, B. R.; Shashirekha, M. N.; Rajarathnam, S. Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms. *Food Chem.* **2008**, *106*, 567–602.
12. Klimešová, I.; Stelzer, J. *Fyziologie výživy*, 1st ed.; Univerzita Palackého v Olomouci: Olomouc, 2013

Sborník příspěvků
XLV. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

Vydala: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5, 166 28 Praha 6
Editoři: Karel Cejpek, Jindřich Špicner
Rok vydání: 2015
Počet stran: 206

Elektronická verze publikace ve formátu PDF.