

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

1. ročník konference

**Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin**



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

Sponzoři

Zlatí sponzoři



Stříbrní sponzoři



Good Food, Good Life

Bronzoví sponzoři



SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

1. ročník konference

**Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin**

6. 2. 2020

Praha



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

**Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl
Editoři**

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Praha 2020

Vědecký výbor:

prof. Ing. František Kvasnička, CSc. (Předseda)	VŠCHT Praha
doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.	VŠCHT Praha
prof. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.	ČVUT Praha
doc. MVDr. Josef Kameník, CSc., MBA	VFU Brno
doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.	ČZU Praha
doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.	VŠCHT Praha
doc. Ing. Pavel Smetana, Ph.D.	JU České Budějovice
doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.	VŠCHT Praha

Organizační výbor:

doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D. (Předseda)
doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.
Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.
Ing. Magdaléna Hrubá
Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.
doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.
Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.
Ing. Zdeňka Urbančíková
Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou.

Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

© Tereza Škorpilová a Aleš Rajchl, 2020

ISBN 978-80-7592-061-4

OBSAH

R referát
P poster

	str.	
R1	7	Čížková, H.: Nové směry v úchově potravin
R2	12	Dobiáš, J.: Trendy v balení potravin
R3	22	Franc, M.: Vybrané problémy jakosti potravin v letech 1950-1970
R4	36	Pivoňka, J., Hrubá, M.: Kvalita potravin
R5	40	Orgocká, A., Vašíčková, P.: Nejčastější původci virových alimentárních infekcí
R6	42	Krzyžánková, M., Vašíčková, P.: Detekce virů způsobujících alimentární infekce v mase a masných výrobcích
R7	44	Musila, P., Beňo, F., Hrubá, M., Pivoňka, J.: Nové netermální směry zpracování potravin – využití bakteriofágů
R8	50	Chadima, I.: Hygienická úskalí současných potravinářských zařízení
R9	51	Kulišťáková Cahlíková, N.: Strategie zmírňování potravinových podvodů
R10	52	Pivoňka, J., Pohůnek, V., Ševčík, R.: Možnosti eliminace používání přídatných látek v potravinách
P1	57	Bauer, J., Beňo, F., Pohůnek, V., Korandová, R., Ševčík, R., Rajchl, A.: Využití sorpčních izoterem k hodnocení kvality trvanlivých masných výrobků
P2	66	Benešová, L., Golian, J., Belej, L., Zajác, P., Čapla, J., Martišová, P., Vlčko, T.: ANALÝZA ZÁSTÚPENIA ŽIVOČÍŠNYCH DRUHOV V ZELENINOVO-MÄSOVÝCH PRÍKRMOCH URČENÝCH PRE DETI
P3	72	Beňo, F., Bauer, J., Pohůnek, V., Nguyen Thi, H., Ševčík, R.: Přehled metod pro zlepšení textury hovězího masa
P4	79	Čapla, J., Zajác, P., Golian, J., Benešová, L., Belej, L.: Duálna kvality potravinárskych výrobkov – porovnávacie testy na spoločnom trhu EÚ (medzi Slovenskom a Rakúskom)
P5	89	Golian, J., Čapla, J., Belej, L., Benešová, L., Zajác, P.: Porovnanie zloženia vybraných mäsových výrobkov na základe kvalitatívnych ukazovateľov

P6	96	Grégrová, A., Kružík, V., Nguyen Thi Quynh, N., Čížková, H.: Vývoj a ověření metody pro hodnocení těkavých látek v čerstvých českých medech
P7	103	Hanková, M., Maturová, K., Čížková, H.: Hodnocení senzorických vlastností odpadních vod sýrárny
P8	111	Kuncová, G., Horsáková, I.: Odolnost mikrobiální kontaminace z nesycených nápojů vůči konzervačním látkám
P9	121	Horsáková, I., Hořejší, D., Slánková, N., Kvasnička, F.: Antimikrobiální a antioxidační vlastnosti extraktu konopí
P10	130	Kružík, V., Grégrová, A., Vaispacherová, L., Škorpilová, T., Čížková, H.: Možnosti rozlišení medového vína od dezertní medoviny
P11	138	Podskalská, T., Říhová, K., Škorpilová, T., Kružík, V., Čížková, H.: Falšování citronových šťáv
P12	144	Rýdlová, L., Konsuo, M., Hrubá, M., Pivoňka, J., Škorpilová, T., Rajchl, A.: Hodnocení kvality zelených čajů dostupných na českém trhu
P13	152	Šviráková, E., Bambasová, L.: Riziko tvorby biofilmů octových bakterií u nealkoholických nápojů
P14	162	Tobolka, A., Škorpilová, T., Dvořáková, Z., Cusimamani, E. F., Rajchl, A.: Hodnocení kvality chilli papriček
P15	172	Vápenka, L., Mrlík, M.: Využití hmotnostní spektrometrie při identifikaci a kvantifikaci nezáměrně přidávaných látek v obalech potravin
P16	180	Zajác, P., Čapla, J., Golian, J., Benešová, L., Belej, Ľ.: Potravinové podvody a ich klíčové faktory

Nové směry v úchově potravin

Current trends in food preservation

Čížková Helena

Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická
3, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Abstrakt

Cílem konzervace potravin je zajištění bezpečnosti a udržení nutriční a senzorické kvality potravin. Inhibice nežádoucích fyziologických, fyzikálních, chemických a především mikrobiologických změn je v současné době majoritně zabezpečována konvenčními technikami založenými na aplikaci vysoké nebo nízké teploty (chlazení, zmrazování, pasterace, sterilace nebo sušení), využitím konzervačních látek nebo tzv. biologickou konzervací potravin. V posledních letech se techniky boje proti nežádoucím změnám potravin stávají sofistikovanými a trendem je interdisciplinární přístup k problematice. Mezi ověřované a do určité míry do průmyslového měřítká přenesené vyspělé technologie patří například ionizující záření, vysoký hydrostatický tlak, pulsní elektrické pole, ultrazvuk, aktivní obalové materiály nebo aplikace překážkové teorie. Příspěvek představuje a diskutuje mechanismy, výhody a nevýhody různých technik konzervace potravin.

Abstract

The aim of food preservation is to ensure food safety and maintain its nutritional and sensory quality. Inhibition of food deterioration caused by undesirable physiological, physical, chemical and mainly microbiological changes is currently primarily guaranteed by conventional techniques based on the application of high or low temperature (cooling, freezing, pasteurization, sterilization or drying), the use of preservatives or so-called biological preservation of foods. In recent years, the techniques to combat these spoilages are becoming sophisticated, and a trend is an interdisciplinary approach to the issue. For example, irradiation, high hydrostatic pressure, pulsed electric field, ultrasound, active packaging materials, or hurdle technology applications are tested and partially transferred into large-scale production. The contribution presents and discusses the mechanisms, advantages and disadvantages of different food preservation techniques.

Úvod

Konzervace neboli proces zajišťující úchovu potravin je tradiční a nezbytnou součástí postupu zpracování potravinářských surovin a potravin. Jejím úkolem je:

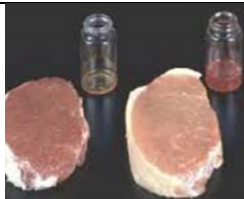
- Prodloužit trvanlivost.
- Získat a zajistit zdravotně nezávadné potraviny a zabránit ohrožení zdraví spotřebitele v průběhu celého řetězce výroby potravin, tj. od produkce surovin po spotřebu konzumentem.

- Eliminovat ztráty a plýtvání potravin ve všech bodech řetězce (v zemědělství, při zpracování, v obchodní síti i v domácnostech).
- Zajistit mimosezonní dostupnost a výkyvy v zásobování.
- Udržet nutriční a senzorickou hodnotu potravin.

Změny potravin

Během celého cyklu zpracování podléhají potravinářské materiály komplexním změnám, které zahrnují změny fyziologické (především enzymové), fyzikální, chemické a mikrobiologické; jejich příklady jsou uvedeny v tabulce 1. V řadě případů se jedná o změny nežádoucí a úkolem konzervace je jejich eliminace nebo zpomalení.

Tabulka 1: Nežádoucí změny v surovinách a potravinách

Fyziologické (přírozeně probíhající v nezpracovaných potravinách)			
	Enzymové hnědnutí banánů	Klíčení brambor	Vada masa (DFD – dark, firm, dry)
Fyzikální			
	Spálení masa mrazem	Vadnutí salátu	Ztráta CO ₂ syceného nápoje
Chemické (včetně vzniku procesních kontaminantů)			
	Neenzymové hnědnutí pečiva během pečení	Degradace (feofytinace) zeleného barviva	Žluknutí tuku
Mikrobiologické (aktivita patogenních a kazících MO)			
	Změna barvy způsobená činností mléčných bakterií	Plesnivění pečiva	Nítkovitost pečiva

Směry v úchově potravin

Trendy v oblasti konzervace potravin je možno demonstrovat na základě studie *Research Trends on Food Preservation: A Scientometric Analysis*¹. Autoři zpracovali 17 511 výstupů s hlavním tématem „konzervace potravin“ zahrnuté v databázi Scopus. Zastoupení jednotlivých metod konzervace potravin, které byly předmětem výzkumného zájmu, je uvedeno na obrázku 1.

Převažujícími postupy (30 %) jsou tzv. biologické metody konzervace (cenoanabiosa), které ke stabilizaci výrobku využívají činnost mikroorganismů. Skupina potravin zahrnuje tradiční i nové výrobky konzervované mléčným kvašením (mléčné výrobky, kysaná zelenina, fermentované salámy), alkoholické nápoje, produkty octového kvašení, proteolýzy a činnosti kulturních plísní. Cíleně kultivované mikroorganismy vytvoří pro produkt charakteristické senzorické látky a zároveň produkují metabolity inhibující konkurenční mikroflóru (organické kyseliny, CO₂, peroxid vodíku, aldehydy, ketony, alkoholy a bakteriociny – nisin, pediocin, lakticin).

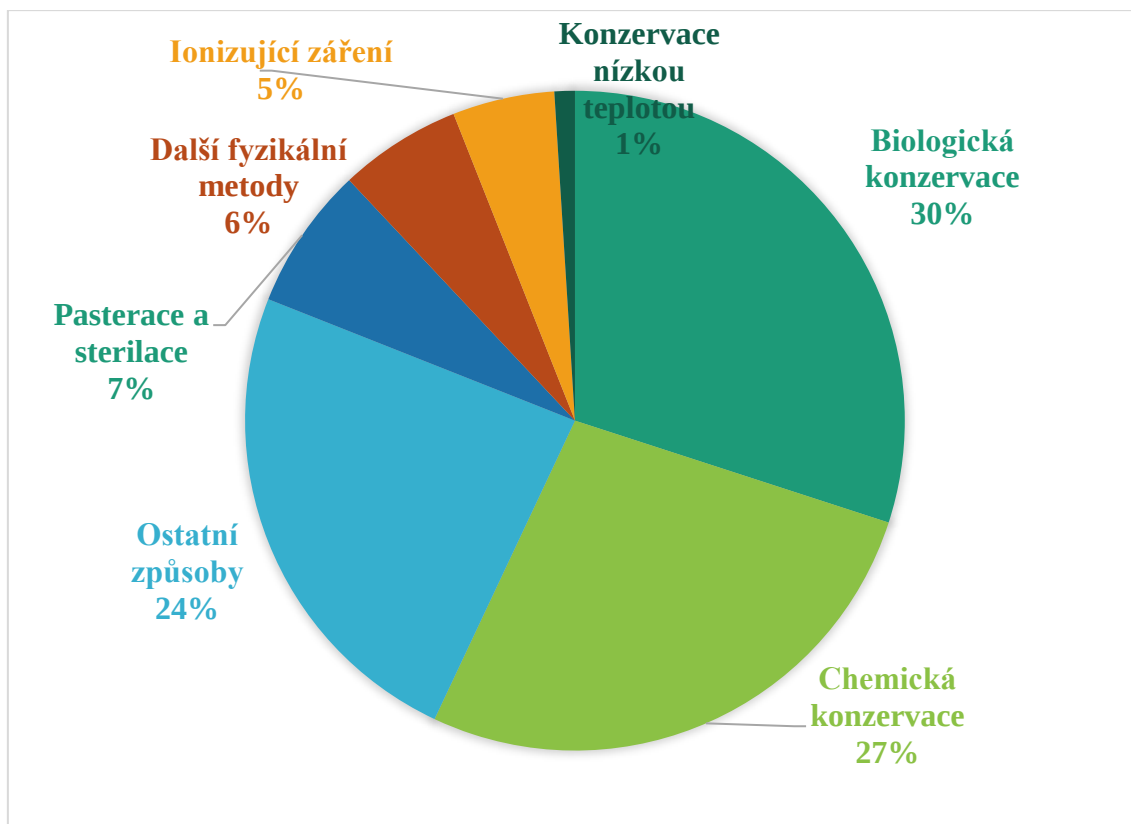
Na druhém místě je chemická konzervace potravin (27 %). Konzervační látky patří společně s antioxidanty mezi přídatné látky prodlužující trvanlivost a jejich seznam, podmínky používání a označování jsou definované nařízením č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách. Přestože jsou tyto látky používány pouze v odůvodněných technologických případech a nepředstavují žádné zdravotní riziko pro spotřebitele, směřuje (pod tlakem spotřebitelů) výzkum a vývoj v této oblasti především k testování možností snižování používaných dávek, k náhradám látkami přírodního původu nebo jinými metodami konzervace potravin.

S výše uvedeným jsou spojeny i směry nových nebo inovovaných konzervačních postupů (tabulka 2), z nichž některé se již na evropském i českém trhu uplatňují, jiné jsou ve fázi výzkumu nebo poloprovozního ověřování, u některých jejich rozvoj omezuje současná evropská legislativa. Jedná se nejčastěji o netermální způsoby ošetření, které zajišťují dostatečnou inaktivaci mikroorganismů a zároveň jsou šetrné vůči nutričním látkám a smyslovým vlastnostem výrobků. Trendy v konzervačních inovacích vedoucí ke zlepšení kvality potravin se odrážejí i v dotačních titulech SZIF Programu rozvoje venkova (podopatření Podpora vývoje nových produktů, postupů a technologií při zpracování zemědělských produktů a jejich uvádění na trh)ⁱⁱ. Tento typ dotací je zaměřen na rozvoj inovací (zavedení nové technologie, nového výrobního postupu či výrobku nebo také zlepšení stávající technologie výroby nebo produktu) v rámci zemědělsko-potravinářské výroby spoluprací se subjekty podílejícími se na výzkumu a vývoji.

Mezi slibné postupy patří konzervace vysokým hydrostatickým tlakem (HPP - *High pressure processing*), což je metoda ošetření spočívající ve vystavení potravině účinku vysokého tlaku (300 až 900 MPa) po dobu několika minut. Technika nalezla využití především při ošetření výrobků z ovoce a zeleniny^{iiiiv}. Konzervační účinek spočívá v porušení a zvýšení propustnosti buněčné stěny mikroorganismů a tím inaktivaci jejich vegetativních forem. Omezením je naopak nežádoucí vliv na strukturu/texturu potravin a omezená účinnost vůči bakteriálním sporám a vybraným enzymům.

Konzervace pomocí pulsního elektrického pole (HIPEF - *High intensity pulsed electric field*) je založená na vystavení potravině krátkým pulzům (1–100 μs) silného elektrického pole o napětí 20–80 kV/cm, které způsobuje elektroporaci (zvýšení propustnosti membrán) buněk. K pozitivním aspektům této metody patří šetrnost vůči nutrientům a senzoricky aktivním látkám, inaktivace vegetativních forem MO, eliminace některých procesních kontaminantů a možnost uplatnění pro další potravinářské aplikace (např. extrakce, lisování, křehčení masa). K omezením naopak patří nedostatečná inaktivace

některých enzymů a chybějící výzkum ohledně případného negativního vlivu na zdraví konzumenta (např. vznik volných radikálů).



Obrázek 1: Výzkumné trendy v konzervaci potravinⁱ

Tabulka 2: Nové postupy konzervace potravin^{vvivii}

K využití	<i>Emerging</i> (ve fázi výzkumu)
Vysoký hydrostatický tlak (HPP)	Nanotechnologie
Pulsní elektrické pole (PEF)	UV a VIS pulsy
Ionizující záření	Studené plasma
Ultrazvuk	Pulsní rentgenové (X) záření
Aktivní obaly	Oscilační magnetické pole (OMF)
+ optimalizace tradičních postupů	

Závěr

Vedle tradičních nároků na konzervační postupy je v současnosti kladen důraz i na ekologické aspekty zpracování potravin, jako je využití obnovitelných zdrojů, snižování energetické náročnosti výroby, snižování spotřeby vody, emisí a odpadů^{viii}. Zároveň potravinářské trendy reflektují požadavky spotřebitelů na minimální nebo šetrné opracování potravin, snižování obsahu přídatných látek, nízké nároky na podmínky skladování (tj. ideálně za pokojové teploty) a zkrácení doby a energie potřebné pro domácí přípravu pokrmů. Jednoznačným trendem je kombinace více šetrných

postupů konzervace potravin (tj. aplikace překážkové teorie – *hurdle technology*). Inovace v úchově potravin musí čelit následujícím výzvám a omezením^{ix}:

- Vysoké investiční náklady a komerční dostupnost nových zařízení.
- Nedokončená fáze vývoje zařízení a technické problémy přenesení z laboratorního do provozního měřítka.
- Nedostatečné nebo nekritické vědecké informace o účinnosti nových postupů a vliv na molekulární strukturu ošetřované potraviny.

Klíčová slova: změny v potravinách, konzervace potravin, úchova potravin

Kontaktní adresa: Helena.Cizkova@vscht.cz

Literatura

¹ Surwase G. et al. (2014): Research Trends on Food Preservation: A Scientometric Analysis. *Journal of Library & Information Technology*, 34: 257–264.

² SZIF Program rozvoje venkova. Podopatření Podpora vývoje nových produktů, postupů a technologií při zpracování zemědělských produktů a jejich uvádění na trh. Dostupné z: <https://www.szif.cz/cs/prv2014-1622> (citováno 4. 2. 2020).

³ Hiperbaric High Pressure Processing. Applications. Dostupné z: <https://www.hiperbaric.com/en/applications> (citováno 4. 2. 2020).

⁴ UGO Blog. Paskalizace aneb jak na šťávy, které vydrží, a mají vitamínů jako čerstvé. Dostupné z: <http://ugo.cz/p/paskalizace-aneb-jak-na-stavy-ktere-vydrzi-a-maji-vitaminu-jako-cerstve> (citováno 4. 2. 2020).

⁵ Gimenez-Escalante P., Rahimifard S. (2016): Innovative food technologies for redistributed manufacturing. figshare. Report. Dostupné z: https://repository.lboro.ac.uk/articles/Innovative_food_technologies_for_redistributed_manufacturing/9577187 (citováno 4. 2. 2020).

⁶ Amit S.K. et al. (2017): A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture & Food Security*, 6, 51: 1–22.

⁷ Jambrak A. R. et al. (2018): Three Pillars of Novel Nonthermal Food Technologies: Food Safety, Quality, and Environment. *Journal of Food Quality*, 1–18.

⁸ Chemat F. et al. (2017): Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41: 357–377.

⁹ Saroya H. K. (2017): Innovative Non-Thermal Food Processing Technologies Used By The Food Industry In The United States. Masters Theses & Specialist Projects. Paper 2028. Dostupné z: <http://digitalcommons.wku.edu/theses/2028> (citováno 4. 2. 2020).

Trendy v balení potravin

Trends in food packaging

Jaroslav Dobiáš

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Souhrn

Konstrukce obalů potravin je ovlivňována trendy, které dlouhodobě ovlivňují požadavky na funkci systému balení. Zásadnější význam mají trendy střednědobé a dlouhodobé. Článek charakterizuje hlavní marketingové, obchodní, výrobní i spotřebitelské trendy. Podrobně jsou charakterizovány požadavky na zdravotní nezávadnost obalů potravin, která je dlouhodobě v popředí zájmu odborné i laické veřejnosti, stejně jako ekologické aspekty systémů balení včetně možností eliminace nepříznivých dopadů produkce obalového odpadu. Jsou zmíněny i další dlouhodobé vlivy jako snaha o maximální pohodlí konzumenta při manipulaci a spotřebou baleného potravinářského produktu, respektování potřeb výrobních a distribučních společností, tj. aplikace obchodních skupinových obalů, využití aktivních a inteligentních systémů, vhodnost pro moderní technologie používané při výrobě potravin, zajištění výsledovatelnosti a autenticity výrobku atd.

Abstract

The design of a food package is influenced by many factors, which influence the function of a packaging system in the long term. The medium and long term trends are of more principal importance. The article characterizes the main marketing, commercial, production and consumer trends. The request for food packaging safety as well as the environmental aspects of food packaging systems including the possibility of packaging waste disposal are discussed in details. The other long term influences are mentioned too, inclusive of the effort for the maximal consumer convenience during handling with food products and their consumption, the respect for needs of production and distribution companies, i.e. use of shelf-ready packaging systems, active and intelligent packages, suitability for modern technologies used in food production, ensuring traceability and authenticity of food products, etc.

Klíčová slova: *balení potravin, trendy, zdravotní nezávadnost, životní prostředí*

Vývoj v potravinářském průmyslu je ovlivňován řadou často protichůdných faktorů, nicméně lze vysledovat obecné vývojové tendence, trendy, které se dlouhodobě opakují a ovlivňují požadavky kladené na obaly potravin. Obecně lze rozeznat střednědobé trendy, projevující se zhruba v pětiletém horizontu a trendy dlouhodobé ovlivňující dané odvětví po několik desítek let. Mezi ty první patří zejména *marketingové trendy*, zabývající se problémy odbytu potravinářského zboží spojeného s významem místa

a způsobu prodeje potravinářských výrobků, masovou komercializací produktu, snadnou (okamžitou) identifikovatelností obchodní značky atd. Dlouhodobé trendy ve výrobě potravin, spojené zejména se snahou maximálně uspokojit zájmy spotřebitelů (tedy především *spotřebitelské trendy*), jsou zaměřeny na zdravotní nezávadnost, pohodlnou aplikaci, mobilitu a šetrnost k životnímu prostředí. Jejich odraz v balení se projevuje v oblasti zdravotní nezávadnosti snahou o rozvoj obalů pro moderní „šetrné“ technologie (aseptické plnění, vysoký tlak, MAP, aktivní obaly atd.), hygienickou nezávadností obalových prostředků, rozvojem systémů zajišťujících výsledovatelnost a autenticitu baleného výrobku, problémy značení potravin atd. Pokud jde o pohodlnou aplikaci potravin, je patrný vývoj směrem k balení hotových výrobků, snadné a dlouhodobé skladovatelnosti, snadné otevíratelnosti a jednoduchému dávkování, balení pro seniory. Podporována je i mobilita balení podmíněna mechanickou odolností, přenosností (možností konzumace z obalu, eliminací nádobí, manipulací jednou rukou atd.), obaly opakovaně uzavíratelné apod. Jako dlouhodobý vliv ovlivňující produkci a použití obalů potravin je nutné uvést i snahu o minimalizaci vlivu na životní prostředí, kdy jsou prosazovány tzv. udržitelné systémy balení. V dalším textu budou zmíněny nejvýznamnější z uvedených vlivů.

Zdravotní nezávadnost potravin je dlouhodobě v popředí zájmu odborné i laické veřejnosti. Jednou z možností, jak může systém balení k tomuto přispět je *konstrukce vhodná pro moderní šetrné způsoby zpracování*. V praxi se již využívají optimalizované termosterilace, tj. aseptické technologie, termosterilace s využitím netradičních forem záhřevu (mikrovlnný a dielektrický ohřev, odporový ohřev), ozařování, stabilizace vysokým hydrostatickým tlakem, balení v modifikované atmosféře a další. Přestože se tyto technologie používají již řadu let, vhodné systémy balení prochází průběžným zdokonalováním, například využíváním prvků aktivního balení.

Bezpečnost systémů balení z hlediska možnosti *kontaminace potravin složkami obalů* je další široce diskutovanou problematikou, jedná se totiž o nejzávažnější hygienický problém balení potravin. Ke sdílení hmoty mezi obalem a potravinou dochází buď mechanismem migrace, tj. extrakcí složek obalu, nebo koroze, tj. úplným rozpouštěním obalového materiálu, popř. jeho vrstev. První způsob je typický pro polymerní obalové materiály, popř. papír, textil, dřevo, druhý pro kovy či sklo. Přestup hmoty z obalu do potravin je významný zejména pro tekuté produkty, kdy je tento děj o několik řádů rychlejší než pro potraviny tuhé, kdy ke sdílení dochází přes plynnou fázi a vlastní proces zahrnuje desorpci těkavých složek z obalového materiálu, jejich pohyb atmosférou v obalu a sorpci v potravíně. Chemické látky přecházející do potravin přispívají k zátěži lidského organismu xenobiotiky. Zvláštní pozornost je nutno věnovat citlivým subpopulacím spotřebitelů, jako jsou kojenci a malé děti, staří lidé či lidé se sníženou imunitou nebo s chronickým onemocněním.

Ve všech vyspělých zemích je proto zaveden systém kontroly kvality obalových prostředků přicházejících do kontaktu s potravinami. V České republice jsou v současnosti základními předpisy Nařízení Evropského parlamentu a Rady Evropy č. 1935/2004/EC a Nařízení Evropské komise č. 1895/2005, 2023/2006, 282/2008, 450/2009, 10/2011, 284/2011, 213/2018, Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného

zdraví a o změně některých souvisejících zákonů a Vyhláška MZ ČR č. 38/2001 Sb., o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami v platných zněních.

Uvedená legislativa definuje podmínky výroby obalů potravin (pozitivní seznam výchozích látek, požadavek dodržování zásad správné výrobní praxe), určuje hygienické limity (limit celkové migrace i specifické migrační limity pro jednotlivé látky či skupiny látek) a stanoví i postupy pro posuzování obalových materiálů. Takto se v zemích Evropské unie vytváří jednotný systém pro hodnocení bezpečnosti obalů potravin. V neharmonizovaných oblastech se využívá principu vzájemného uznávání požadavků národních legislativ zajišťujícího volnou výměnu zboží mezi členskými zeměmi. Současně existuje systém rychlé výměny informací mezi Evropskou komisí a členskými státy při výskytu nebezpečných potravinářských výrobků známý pod zkratkou RASFF. V současnosti je vyžadováno i monitorování obsahu problematických látek aplikovaných do obalových materiálů při výrobě neúmyslně, tedy jako kontaminantů použitých aditiv (Non-Intentionally Added Substances – NIAS).

Výrobci obalových materiálů musí vydávat písemné prohlášení o shodě s uvedenou legislativou. Závazná podoba tohoto prohlášení, je uvedena v nařízení Evropské komise č. 10/2011 pro polymerní materiály. Vlastní kontrolu kvality používaných obalových materiálů pak zajišťují orgány státní hygienické služby (zdravotní ústavy). Na základě dosavadních zkušeností lze konstatovat, že tento systém je účinný a výskyt nevyhovujících obalových materiálů je v praxi velmi nízký v porovnání s jinými předměty a materiály určenými pro kontakt s potravinami, tj. kuchyňskými potřebami, strojními součástkami, hračkami atd.

Mezi významnější kontaminanty potravin pocházejících z obalových materiálů patří *estery kyseliny ftalové* (např. dibutylftalát, diizobutylftalát, diethylhexylftalát a další tradičně využívané jako změkčovadla plastů, lepidel, tiskových barev atd.), *rezidua minerálních olejů* (velmi různorodá skupina látek složením závisící především na původu a tvořená minerálními oleji s nasycenými uhlovodíky - MOSH, minerální oleje s aromatickými uhlovodíky - MOAH, popř. polymerní oligomery z nasycených uhlovodíků - POSH jako rezidua ze syntézy polymerního materiálu), *primární aromatické aminy, formaldehyd, bisfenoly, neftalátová změkčovadla, perflouralkylované sloučeniny (PFAS), fotoiniciátory a těžké kovy*.

Dopady na životní prostředí. V současné době se prakticky ve všech oblastech lidského počínání projevuje vliv enormního vzrůstu ekologického uvědomění a balení potravin není výjimkou. Obalový odpad a jeho hromadění je častým mediálním symbolem znečištění přírody. Je to způsobeno enormním objemem obalů používaných ve všech oblastech života. Pozice obalového odpadu je v této souvislosti nepříznivě ovlivněna charakteristickými rysy obalů, tj. značným objemem při nízké hmotnosti a schopností poutat pozornost i na velkou vzdálenost. Na druhou stranu je třeba zvážit skutečnost, že aplikace obalů umožňuje významné prodloužení skladovatelnosti potravin a tím značně snižuje množství potravinářského odpadu tvořeného znehodnocenými potravinami.

Protože likvidace obalového odpadu představuje významný problém je tedy ve vyspělých zemích obecnou snahou maximální redukce jeho množství, čehož lze dosáhnout i prevencí spočívající v omezení objemu používaných obalů zejména eliminací nefunkčních obalů, redukcí množství využívaných funkčních obalů na technologicky přijatelné minimum a zavedením opakovaně používaných obalů a recyklací obalových materiálů v technicky a ekonomicky přijatelných případech.

Na základě publikovaných údajů lze předpokládat, že průměrná rodina ve vyspělé zemi vyprodukuje přes jednu tunu pevných odpadů za rok (Evropa cca 250-400 kg, USA cca 900 kg komunálního odpadu na hlavu) a obalový odpad z toho činí cca 30 % hmotnostních nebo více než 50 % objemových. Lze předpokládat, že výše uvedená opatření by mohla vést spíše ke zpomalení nárůstu objemu produkce obalů než snížení celkového množství používaných obalových prostředků.

Objektivní posuzování vlivu produkce obalů na životní prostředí. Názory na ekologickou čistotu různých obalových materiálů se doposud významně liší. Jak výrobci, tak spotřebitelé se shodují pouze na obecné potřebě minimalizovat zatížení životního prostředí použitými obalovými prostředky. Zde ale společný názor končí a při hodnocení obalových materiálů při nejrůznějších příležitostech se lze setkat se zcela protichůdnými informacemi. Kromě problémů, které budou zmíněny dále, je třeba si uvědomit, že informace o vlivu obalových materiálů na životní prostředí jsou často užívány výrobci k reklamním a marketingovým účelům a jako prostředek konkurenčního boje. Je dále zřejmé, že pro skutečné zhodnocení vlivu výroby a užívání obalových materiálů na životné prostředí je třeba získat objektivní údaje a stanovit objektivní kritéria.

Zpočátku byla tato kritéria založena především na porovnání problémů spojených s likvidací různých obalových materiálů. Například byla posuzována vhodnost pro konstrukci opakovaně používaných obalů, možnost jejich recyklace nebo zpracování jako druhotné suroviny, vhodnost pro likvidaci v rámci tuhého odpadu, tj. spalování, kompostování a ukládání na skládkách atd. Ukázalo se však, že pro objektivní zhodnocení celkového vlivu používání určitého obalového materiálu je nezbytné komplexnější zhodnocení. Od počátku 80. let minulého století je tento problém studován za použití tzv. LCA metod (Life Cycle Assessment), podle dřívější terminologie tzv. ekologických bilancí.

LCA je nástroj environmentální systémové analýzy pro kvantifikaci vstupů a výstupů spojených s konkrétní činností, ať je to výrobní proces, činnost určitého zařízení či skupiny lidí atd. Vstupy a výstupy jsou potom uvedeny do souvislosti s vlivem na životní prostředí. Environmentální systém zahrnuje celý životní cyklus, od těžby surovin, výroby materiálů a produktů, až po distribuci, využívání, údržbu produktu a řízení konce životního cyklu. Výsledky studie LCA tak kvantifikují potenciální vliv systému produktu na životní prostředí za celý životní cyklus.

Při studiu systémů balení je prvním krokem přesná specifikace sledovaného systému, která by měla zahrnovat pokud možno celý "životní cyklus" obalu od získání surovin pro výrobu obalových materiálů, přes jejich zpracování, výrobu vlastních obalů, jejich použití

v potravinářském průmyslu (tj. plnění, uzavírání, manipulaci s nimi a jejich distribuci) až po recyklaci nebo likvidaci obalového odpadu.

Další fází je bilance materiálových a energetických toků v každém stádiu systému. Na vstupech je hodnocena především spotřeba surovin včetně pomocných materiálů, spotřeba vody, elektrické a tepelné energie. Na výstupu jsou pak uvažována kritéria jako množství a charakter vedlejších produktů a odpadů, stupeň znečištění vody a vzduchu, stejně jako množství odpadního tepla a tepelných produktů.

Problém je však mnohem komplikovanější. Je mnoho ekologických efektů, které nelze postihnout kvantifikovatelnými parametry a které nemohou být opomenuty. Je to například možnost regenerace některých surovinových zdrojů (biomasa) v porovnání s omezenými zdroji některých fosilních a minerálních surovin a dále ovlivnění daného biotopu včetně estetického poškození vzhledu krajiny v důsledku těžby surovin nebo znečištění půdy, klimatických změn v důsledku znečištění vzduchu atd.

Navrhnout model pro zhodnocení celkového vlivu používání určitého obalového prostředku na životní prostředí je velmi obtížné. V praxi proto doposud musí být uvažována řada zjednodušujících předpokladů. Například doposud publikované modely zahrnovaly různá stadia životního cyklu obalového materiálu, některé se zabývaly pouze výrobou obalového materiálu, jiné zahrnovaly i výrobu obalů. Vlastní balení potravin, manipulace s naplněnými obaly a distribuce a transport většinou nebyly uvažovány. Rozdíly existují i ve způsobu stanovení ekologického vlivu zdrojů energie atd. Velké problémy přináší i zobecnění hodnot získaných z různých zdrojů, způsob stanovení průměrných reprezentačních hodnot atd.

Metodologická východiska pro vypracování LCA bilancí byla široce publikována, i v České republice existují agentury nabízející vypracování podobných studií či pořádající semináře zaměřené na tuto problematiku. Teoreticky by tedy nemělo být problém získat objektivní výsledky LCA hodnocení různých systémů balení. To je však doposud i po čtyřiceti letech téměř nemožné.

Moderní řešení jsou charakteristická tím, že zahrnují jak vypracování metodologie, tak výpočet numerických údajů pro kvantifikaci ekologického účinku. Získaná data jsou zpracovávána ve formě modulů, které umožňují kombinací za použití výpočetní techniky poskytnout informace pro prakticky libovolný systém balení. Navzdory uvedenému je i při současných technických možnostech objektivní a přesné zhodnocení ekologické přijatelnosti různých typů obalových prostředků obtížné. Získané výsledky mohou být často dosti odlišné od tradičních názorů veřejnosti. Navzdory více než dvaceti letům intenzivního studia v této oblasti není doposud možné jednoznačně odmítnout žádný obalový materiál (např. PVC) nebo typ obalů jako neekologický. Za tohoto stavu lze předpokládat, že většina prováděných studií má doposud důvěrný charakter, neboť výrobci a zpracovatelé obalových materiálů poskytují objektivní data pouze za příslibu nezveřejnění výsledků. Důsledkem je existence mnoha rozporných hodnocení i fakt, že oficiální vládní úřady, u nás Ministerstvo životního prostředí, otázku ekologičnosti jednotlivých obalových materiálů ve svých rozhodnutích neuvažují.

Doposud jsou tak ekologické aspekty různých typů obalových prostředků v médiích redukovány na jejich *likvidaci*. Z tohoto pohledu jsou v současnosti preferovány dva typy obalů, a to obaly vyrobené z jediného materiálu a obaly na bázi několika materiálů, které lze snadno, tj. mechanicky, separovat. Oba tyto principy konstrukce obalů usnadňují jejich třídění při opětovném využití obalového odpadu, například jeho recyklaci. Z tohoto pohledu lze jako neekologické označit všechny laminované obalové materiály včetně nápojových krabic, přestože jejich výrobci uvádí různé způsoby jejich opětovného využití. Ty ale bývají komplikované s negativním dopadem na životní prostředí v důsledku velké spotřeby energie, znečištění velkého objemu vody či ovzduší.

Při zkoumání vlivu lidské činnosti na životní prostředí se často zmiňuje nutnost maximálně možného přiblížení k podmínkám *trvale udržitelného rozvoje* ve všech oblastech, tedy i v obalové technice. *Udržitelnost* je chápána jako schopnost stále udržovat způsob života v daných mezích možností života na Zemi, kdy jsou základní potřeby dneška uspokojovány bez omezování schopnosti budoucích generací uspokojit jejich základní potřeby. K tomu je nutné se vyvarovat vyčerpání zdrojů. Trvale udržitelný rozvoj představuje koncepce smíření požadavků účinné ochrany přírody, prostředí, a zdrojů s hospodářským rozvojem. Praktická uskutečnitelnost této teorie je doposud kontroverzní.

Za *udržitelné obaly* („sustainable package“) maximálně příznivé pro životní prostředí se v současné době považují jednak *funkční nepředimenzované obaly* prokazatelně vyrobené s využitím minimálního množství materiálu (významné omezení obalového odpadu) a dále *obaly umožňující maximálně efektivní zpracování* (výroba, distribuce, použití, likvidace) s výraznou úsporou energie atd. Třetí skupinu představují *obaly z materiálů vyrobených z obnovitelných zdrojů* především polymerů, tzv. *bioplastů*.

Problematiku *likvidace obalového odpadu* řeší v České republice zákon č. 477/2001 Sb., o obalech a o změně některých zákonů v platném znění, částečně i zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů.

Zákon 477/2001 Sb. je implementací evropské direktivy 94/62/EC, jejímž cílem je minimalizovat množství obalového odpadu končícího na skládkách. Nejdůležitější povinnosti vyplývající pro výrobce potravin z platnosti tohoto zákona jsou plnění podmínek pro uvedení obalu do oběhu a na trh a povinnost zpětného odběru a likvidace obalů, tak aby objem obalového odpadu končící na skládkách byl minimální a množství opětovně využitého vyhovovalo požadavkům stanoveným Evropskou komisí, které k 1.1.2020 vyžadují, aby minimálně 70 % celkového obalového odpadu bylo recyklováno (z toho 75 % papírového a skleněného odpadu, 50 % plastového, 55 % kovového a 15 % dřevěného) a 75 % opětovně využito. Opětovné využití zahrnuje řadu procesů, které ve svém důsledku představují přínos z použitého odpadu. Patří sem opakované použití, recyklace, energetické využití (spalování odpadu a zužitkování získaného tepla) a organická recyklace (kompostování biologicky rozložitelných složek). Recyklace je v podstatě materiálové využití, tj. vyrobený materiál může být znovu použit k původnímu nebo jinému účelu.

V posledních letech značně vzrostlo znepokojení odborné i laické veřejnosti v souvislosti s množstvím polymerního obalového odpadu hromadícího se zejména v oceánech. Tato skutečnost přiměla Evropský parlament ke schválení celounijního zákazu prodeje některých plastových výrobků na jedno použití. Nová právní úprava zakazuje od roku 2021 prodej jednorázových plastových příborů (vidličky, nože, lžíce, jídelní hůlky), talířů, plastových brček, vatových tyčinek, tyček k balónkům a produktů z oxo-rozložitelných plastů. Nová legislativa ukládá členským státům do roku 2029 dosažení úrovně sběru plastových lahví na 90 %. Do roku 2025 by měl podíl recyklovaného obsahu v plastových lahvích dosáhnout 25 %, do roku 2030 30 %. Schválený text směrnice zavádí systém rozšířené odpovědnosti výrobce a na obalech povinné informování o negativních vlivech pouličního odhazování cigaretových nedopalků s plastovými filtry, plastových kelímků či vlhčených ubrousků na životní prostředí.

V této souvislosti je na místě zmínit některé skutečnosti na obranu aplikace polymerních obalů. Jejich široké použití není náhodné, ale je důsledkem nesčetných funkčních i ekonomických výhod. Úplná náhrada plastových obalů v současnosti již není dosti dobře možná, neboť ve skutečnosti neexistuje rovnocenná náhrada. Sortiment plastových produktů zmíněný ve výše uvedené nové směrnici je z hlediska využití polymerních obalů v praxi okrajový a mnohdy kopíruje v současnosti používaná naddimenzovaná balení, která měla být omezena už dávno v rámci plnění podmínek uvádění obalů na trh, v ČR ve smyslu zákona č. 477/2001 Sb.

Při diskuzi o omezování aplikace plastových obalů se často jako možná řešení uvádí použití plastových vratných obalů, obalových prostředků z biodegradabilních polymerů, bioplastů či oxodegradabilních plastů. Použití posledně uvedených materiálů bylo výše uvedeným rozhodnutím Evropského parlamentu zakázáno od roku 2021.

Možnost *aplikace opakovaně používaných plastových obalů* je negativně ovlivňována poměrně velkými náklady spojenými s kontrolou čistoty vracených obalů v důsledku citlivosti polymerních materiálů k ataku nepotravinářských náplní pronikajících do struktury polymeru při nesprávném mezipoužití obalu a možnosti využití pouze méně účinných mycích režimů oproti obalům skleněným. Navíc obecný trend snižování objemu opakovaně používaných obalů a jejich náhrada jednocestnými obaly, a to i při balení piva, mléka a nealko nápojů nesvědčí o výhodnosti využití obalů pro opakované použití v současných podmínkách.

Biodegradovatelné obaly. Jako biodegradovatelné se označují materiály, jejichž rozpad je způsoben živými organismy, převážně mikroorganismy. Rozklad biodegradabilních materiálů na skládkách je komplexní proces zahrnující fyzikální děje, chemické a biochemické změny, závislý na mnoha okolních vlivech (světlo, oxidační prostředí atd.). Významnější biodegradovatelné obalové materiály jsou materiály jak přírodní (včetně modifikovaných) tak syntetické. Do první skupiny náleží obaly na bázi *celulózy* (např. celofán), *škrobu* (samotného nebo ve směsi s polymery syntetickými), do druhé škála biologicky odbouratelných polyesterů, především *polylaktátu*, *polyhydroxyalkanoátů*, *polybutylensukcinátu*, *polybutylenadipátu* atd.

Výhody. Obecně uváděnou a oceňovanou výhodou *biodegradovatelných materiálů* je jejich větší šetrnost k životnímu prostředí, zejména nižší spotřeba energie při jejich výrobě, nižší produkce emisí během jejich výroby v porovnání s tradičními polymery vyráběnými z fosilních zdrojů a pochopitelně možnost rozkladu na skládkách. Nicméně publikovaná hodnocení v tomto ohledu nebývají jednoznačná, problémem může být například způsob započtení spotřeby energie a paliv nutných k vypěstování plodin, z nichž se tato materiály vyrábí atd.

Jako hlavní *nevýhodu* biodegradovatelných materiálů lze v současnosti uvést to, že při jejich uložení na skládkách se nevyužije vysoký obsah energie v nich obsažené. Ta se při rozkladu bez užitku uvolní do okolí. Tato skutečnost způsobila odklon zájmu od biodegradovatelných materiálů k bioplastům (viz dále). Jako další nevýhody lze zmínit produkci skleníkových plynů (CH_4) při kompostování, nevhodnost biodegradovatelných polymerních materiálů pro recyklaci a nepříznivé cenové poměry, kdy je jejich cena vysoká při srovnatelných funkčních vlastnostech nebo srovnatelná při významně horších funkčních vlastnostech s tradičními obalovými polymery. Pokud jde o balení potravin, je problémem biodegradovatelných obalů absence účinné bariéry vůči působení mikroorganismů v případě vyšší aktivity vody v baleném produktu. V tomto případě je nutné obalový materiál hydrofobizovat, což nezbytně znamená snížení až ztrátu biodegradability.

Bioplasty jsou obecně plasty vyrobené z obnovitelných zdrojů, tj. biomasy, rostlinných olejů, škrobu atd. Některé z nich mohou být biodegradovatelné, velká část využívaných bioplastů ale biodegradabilní není. Zde je třeba upozornit na rozdíl pojmů bioplast a *biopolymer*, kdy druhý se používá pro makromolekulární látky přírodního původu. Mezi nejznámější bioplasty, jejichž využití je možné i v obalové technice lze zařadit polyamid 11 (Rislan, výrobce Arkema S.A., Francie) získávaný z ricinového oleje, polyamid 410 (EcoPacXX, výrobce DSM Biogas, Holandsko) či bio-polyethylen získávaný polymerací ethylenu vyráběného redukcí ethanolu z fermentované třtinové melasy (Braskem, výrobce Braskem S.A., Brazílie). Z dalších využívaných bioplastů stojí za zmínku bio-polyethylentereftalát, který se vyrábí z monoethylenglykolu původem z kvasného ethanolu a kyseliny tereftalové doposud vyrobené oxidací p-xyleny z nafty. V současnosti jsou hledány cesty pro výrobu i této složky z obnovitelných zdrojů, jako možná se jeví oxidace furfuralu z biomasy. Popsána již byla i možnost výroby bio-polybutylensukcinátu (PBS), kdy kyselinu jantarovou lze vyrobit mikrobiální fermentací glukózy, 1,4-butandiol opět oxidací furfuralu. V současnosti činí světová produkce bioplastů o málo více než 2 miliony tun, což nečiní ani jedno procento z celkové roční výroby plastů (cca 320 milionů tun).

Jako alternativa k biodegradovatelným polymerním materiálům byly vyvinuty i tzv. *oxodegradabilní polymery*, tj. syntetické polymery vyrobené z ropy, které se po určité době (od několika měsíců po několik let) ve volném prostředí či na skládce samovolně rozpadají převážně v důsledku působení slunečního záření, tepla a vzdušného kyslíku na nízkomolekulární látky neškodné pro životní prostředí. Jde převážně o běžně používané polymery (polyolefiny) obohacené speciálními aditivy významně urychlujícími jejich rozpad (UV/oxidační degradaci) umožňující například eliminaci volně odhazovaného

odpadu. Obecně oxodegradabilní polymery nejsou biodegradabilní, tj. na jejich rozpadu se nepodílí mikroorganismy a nejsou tak ani kompostovatelné. Jejich širší uplatnění bylo doposud omezeno kratší životností a patrně i doposud vyšší cenou. Jak již bylo uvedeno, použití těchto materiálů bylo rozhodnutím Evropského parlamentu od roku 2021 zakázáno. Důvodem je skutečnost, že rozklad oxodegradabilních materiálů na nízkomolekulární složky není úplný, ale je doprovázen i vznikem polymerních mikročástic, které jsou v současnosti považovány jako rizikové pro životní prostředí, zejména pro znečištění oceánů. Navíc tyto materiály nejsou podobně jako biodegradabilní plasty vhodné pro recyklaci.

Maximální vstřícnost *pohodlí spotřebitele* je dalším dlouhodobým trendem v balení potravin. Z tohoto pohledu je významná *konstrukce balení*, kterou spotřebitel na obalu hodnotí a která přispívá k prodejnosti baleného zboží. Jde zejména o ergonomické řešení obalu zajišťující snadnost manipulace s ním. Z tohoto hlediska je spotřebitelem očekáváno zejména pohodlné uchopení obalu, snadnost jeho otevření (bez použití nástroje), vyprázdnění, mobilita balení, tj. mechanická odolnost, možnost dávkování či konzumace přímo z obalu, možnost opětovného uzavření obalu atd. Významná je možnost aplikace prvků inteligentního balení (indikátorů) informujících spotřebitele o aktuálním stavu baleného produktu. S konstrukcí obalů souvisí i snaha o maximální finalizaci potravinářských výrobků, které si spotřebitel připraví do konečné podoby pouze minimálními úpravami často přímo ve spotřebitelském obalu. Z tohoto pohledu jsou významné například potraviny, které lze tepelně upravovat ve spotřebitelských obalech, např. ve formě varných sáčků, v plastových nebo hliníkových miskách určených pro konvenční nebo mikrovlnný ohřev atd. Dalším často ceněným parametrem je i možnost sekundárního využití obalu spotřebitelem stejně jako konstrukce uzávěru zajišťující deklarovanou kvantitu a autenticitu baleného zboží. Významná je i otázka komunikační funkce obalu ve vztahu ke spotřebiteli.

Pokud jde o *marketingové trendy*, očekává se především, že obal *upoutá pozornost* zákazníka v pestré směsici zboží, které ho v prodejně obklopuje. Předpokladem toho je, že se příslušný obal bude odlišovat od ostatního zboží. Po upoutání pozornosti je dalším úkolem obalu vzbudit přání koupit příslušný výrobek, a proto obal musí vyvolat u zákazníka co nejpríznivější asociaci o kvalitě zboží. Kromě těchto dvou aspektů se jako další podmínka úspěchu uvádí zapamatovatelnost obalu zejména u zboží, jehož koupě se často opakuje (využití ochranné známky či podoby obalu chráněné průmyslovým vzorem) a schopnost maximálně informovat zákazníka o parametrech výrobku. Zmíněné vlastnosti obalů souvisí nejen s jejich technickou podobou, ale především s jejich estetickým řešením. Přes značnou subjektivitu estetického vnímání lze i v této oblasti stanovit několik víceméně platných kritérií. Existuje souvislost mezi estetickým dojmem a některými funkčními vlastnostmi výrobku, pozornost zákazníka upoutávají zejména atypické tvary. Významná je i grafická úprava obalu, volba formátu, členění ploch, volba barev, módních motivů, popř. aplikace transparentních obalů, kombinace obrazové a textové složky atd.

Z hlediska *obchodu* jsou v současnosti ceněny tzv. *obchodní skupinové obaly* („*shelf-ready*“ *obaly*), umožňující rychlé a pohodlné umístění potravinářských výrobků

do prodejních regálů a někdy plnící i funkci poutačů. Žádána je vhodnost balení pro přepravu na paletách (mechanická odolnost, pevnost, optimalizované rozměry atd.) včetně aplikace RFID (*Radio Frequency Identification*) čipů (tagů) umožňujících automatickou kontrolu pohybu expedovaného a skladovaného zboží.

Na závěr je třeba zmínit, že obal často po naplnění prochází technologickými operacemi souvisejícími s vlastním zpracováním potraviny, tj. je vystaven působení vyšších či nízkých teplot, ozařování, působení velkých tlaků atd. Výrobci proto musí vyvíjet systémy balení vyhovující těmto podmínkám. Trendem posledních let je přitom příklon k měkkým obalovým materiálům, umožňujícím snížení výrobních nákladů zejména v důsledku nízké hmotnosti a možnosti tvarování obalu přímo na výrobní lince.

Kontakt na autora: tel. +420603909199, email: jabias@seznam.cz

Vybrané problémy jakosti potravin v letech 1950–1970

Selected issues of food quality in 1950–1970

Martin Franc

Masarykův ústav a Archiv Akademie věd ČR, v. v. i.

Souhrn

Studie se věnuje třem důležitým problémům jakosti potravin v Československu v letech 1950–1970. Nejprve se soustřeďuje na problematiku potravinových náhražek. Ty se rozšířily především v období 2. světové války a těsně po ní. V některých případech však přežívaly ve výrobě ještě v polovině padesátých let, což se týká např. náhražky za celé vejce Synthova a náhražky za bílek Synfirna. Zároveň některé náhražky jako např. margarin byly nově prezentovány jako samostatně kategorie výrobků se specifickými vlastnostmi. Druhým tématem studie je krize systému jakostních norem na počátku šedesátých let 20. století, kdy z úsporných důvodů došlo k povolení četných odchylek od stanoveného složení i technologie výroby potravin. To ve většině případů znamenalo výrazné snížení kvality např. mléka, másla, mléčných výrobků, margarinu, piva, pečiva, masných výrobků, masa, nealkoholických nápojů či čokolády. Některé důležité výjimky (tučnost mléka) přitom zůstávaly v platnosti ještě v roce 1968. Mohutná vlna výjimek z norem rozvrátila celý systém udržování standardní jakosti potravin a její následky se odstraňovaly jen velmi obtížně. Ukazují to i výsledky jakostních kontrol prováděné Ústavem kontroly a vývoje jakosti potravin podřízeným oborovému ředitelství Potravinářského obchodu v letech 1965–1966. I když se situace v průběhu let 1964–1967 postupně zlepšovala, skutečně špičkové jakosti, jež by snesla mezinárodní srovnání, dosahovala jen malá skupinka potravinářských výrobků, většinou tradičních specialit (piva, některých masných výrobků, značkových lihovin či čokoládových produktů). Naopak podle jakostních kontrol v roce 1967 stále nesplňovalo požadavky norem 78,5 % konzervovaných vajec, 52,3 % ovocných pomazánek či 33,6 % masných výrobků.

Summary

The study focuses on three major issues of food quality in Czechoslovakia in 1950–1970. First of all it addresses the issue of food substitutes, which started spreading especially during and after World War II. In some cases, however, they survived in production until mid-1950s, which applies to the whole-egg substitute Synthova and the eggwhite substitute Synfirna. At the same time, some substitutes, such as margarine, were newly presented as a separate product category with specific characteristics. Another major topic of the study deals with the crisis of the system of quality standards at the beginning of the 1960s, when numerous deviations from the specified ingredients and food-processing technology were permitted for cost-saving reasons. This mostly resulted in a significant decrease in the quality of e.g. milk, butter, dairy products, margarine, beer, bakery

products, meat and meat products, soft drinks and chocolate. Some important exemptions (milk fat content) were in force even in 1968. The massive wave of exemptions undermined the entire standard food quality system and its consequences were very hard to overcome. This is obvious from the results of quality inspections carried out by the Institute of Food Quality Monitoring and Development, part of the Food Trade Directorate in 1965–1966. Even though the situation was gradually getting better in 1964–1967, only very few food products reached a top quality level that could succeed in international comparisons; these were mostly traditional specialities (beer, some meat products, branded spirits and chocolate products). On the contrary, 78.5% of all preserved eggs, 52.3% of all fruit spreads and 33.6% of all meat products did not meet the requirements laid down in the standards, according to quality inspections made in 1967.

Klíčová slova: *Historie 1950–1970 – jakost potravin – náhražky – jakostní normy – kontrola jakosti*

Keywords: *History 1950–1970 – Food Quality – Substitutes – Quality Standards – Quality Control*

Diskuse o kvalitě potravin v období před rokem 1989 si i v současnosti uchovává značnou aktuálnost, jak dokládají četné internetové diskuse. Většinou je však zde reflektována zejména situace v sedmdesátých, a ještě spíše osmdesátých letech 20. století, a to často s výrazným ideologickým přídechem – jakákoliv pozitivní zmínka týkající se kvality potravin je některými účastníky diskuse okamžitě označena za komunistickou propagandu a obhajobu předlistopadové politiky, naopak zmínky negativní jsou jinými diskutujícími označovány jako výsledek současného vymývání mozků. To samozřejmě velmi poznamenává racionálnost podobných debat, které vedou pouze v sebeutvrzování ve vlastních vyhraněných názorech.

Tento příspěvek se však soustředí na problém jakosti potravin v poněkud starším období, tedy v padesátých a šedesátých letech 20. století. I když politický kontext hraje v textu nepochybně zásadní roli, nelze podle mého názoru pracovat se zjednodušujícími zkratkami, podle nichž nedemokratický režim ze své podstaty není schopen zajistit produkci jakostních potravin. Realita bývá obvykle mnohem složitější. Ve své studii se věnuji třem okruhům – náhražkám používaným v potravinářské produkci (s hlavním důrazem na náhražky při výrobě cukrovinek), krizi systému jakostních norem v první polovině šedesátých let 20. století a konečně na podobu a výsledky jakostních kontrol v letech 1965–1966. Zvolená témata se soustředí pochopitelně spíše na odvrácenou tvář kvality potravin pro nejširší vrstvy občanů, přesto nepatřilo k mým cílům vytvářet výhradně negativní obraz. Spíše jsem chtěl ukázat na některé souvislosti, tehdejším běžným spotřebitelům skryté.

Při svém výzkumu jsem vycházel z dobových odborných publikací, ale především z archivních materiálů z provenience ÚV KSČ a součástí jejího aparátu, z Ministerstva vnitřního obchodu a pro poslední téma zejména z materiálů gremiálních porad Sdružení potravinářského obchodu (později Potravinářského obchodu oborového ředitelství), uložených ve Slovenském národním archivu v rámci fondu Povereníctvo SNR pre

obchod 1964–1968. Víceméně jen nahodile jsem mohl využít dobový tisk, přestože hrál při kontrole jakosti potravin, respektive při ochraně spotřebitelů před zbožím nevyhovující kvality v daném období zásadní roli. Důkladný heuristický výzkum periodik z tohoto hlediska však ještě nebyl proveden. V této fázi výzkumu rovněž nebylo možno provést rozsáhlejší srovnání se situací v sousedních zemích sovětského bloku, přestože by se tak zajímavým způsobem dalo ukázat na existující paralely, ale i na některá specifika v Československu.

Vysoká míra používání náhražek nedostatkových potravin patřily mezi výrazné rysy stravování v českých zemích (méně již na Slovensku) v období 2. světové války i těsně poválečné éry stejně jako například dopady fungování přidělového systému, jenž u nás fungoval prakticky až do června 1953. Náhražky rozšířené za 2. světové války již nebyly výsledkem podobně zběsilých improvizací jako při předchozím globálním válečném konfliktu v letech 1914–1918.¹ Daleko spíše se jednalo o výsledky dlouholetého výzkumu na základě výsledků z 1. světové války dosažených hlavně v Německu. Bádání nad náhražkami se prohloubilo hlavně po uchopení moci v Německu nacisty, kteří počítali s válkou jako odplatou za výsledky stvrzené Versaillskou mírovou dohodou a pečlivě se na tuto situaci připravovali i zaváděním různých regulací do produkce a distribuce potravin. To se pak odrazilo i v memoárech často připomínaném obrazu z prvních dnů okupace Československa v březnu 1939, kdy okupační vojáci a později i turisté z Německé říše obsadili především cukrárny, kde si pochutnávali na kvalitním zboží domácí provenience (údajně zejména šlehačkových dortech).² V rámci okupačních nařízení se však různá omezení a vynucené používání náhražek záhy prosadilo i v Protektorátu Čechy a Morava a mnohé z nich z výroby nezmizelo ani po roce 1945.³ V poválečné éře se objevily navíc některé nové produkty chemického průmyslu nahrazující kvalitní tuky a také vejce jako komodity, které běžným spotřebitelům i producentům potravinářského (zejména cukrářského) zboží chyběly patrně nejvíce. Velkého rozšíření se dočkal také umělý med. Oproti válečným časům se paradoxně zásobovací situace v některých ohledech spíše zhoršovala – nejprve zapůsobil velmi nepříznivě rekordně suchý rok 1947, kdy navíc ustaly dodávky organizace UNRRA (United Nations Relief and Rehabilitation Administration). Díky UNRRA přitom

¹ K situaci ve výživě za 1. světové války u nás srov. KUČERA, Rudolf: *Život na příděl. Válečná každodennost a politiky dělnické třídy v českých zemích 1914–1918*. Praha: Nakladatelství Lidové noviny, 2013. Srov. i SLABOVÁ, Markéta: „Kdo si v létě nesušil ovoce a houby, bude v zimě sušit hubu.“ Strava a stravování ve válečných letech 1914–1918. In JEDLIČKOVÁ, Blanka, LENDEROVÁ, Milena, KOUBA, Miroslav, ŘÍHA, Ivo (eds.): *Krajiny prostřených i prázdných stolů I. Evropská gastronomie v proměnách staletí*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2016, s. 207–226 a DUDEKOVÁ, Gabriela: *Vojnová gastronomie. Zmeny stravovania a stravovacích zvyklostí za prvej svetovej vojny v Rakúsko-Uhorsku*. Tamtéž, s. 182/206. K náhražkám srov. FRANC, Martin: *Výmysly německých profesorů i návrat k zkušenostem předků. Přírodní potravinové náhražky za 1. světové války v českých zemích. Práce z dějin Akademie věd*, roč. 4, č. 1, s. 1–16. Zde i citace starší a dobové literatury.

² Srov. např. JAKUBEC, Ivan, ŠTEMBERK, Jan: *Cestovní ruch pod dohledem Třetí říše*. Praha: Karolinum, 2018, s. 220.

³ Důkladné zpracování stravování za Protektorátu bohužel dosud chybí. Zmiňme alespoň některé reflexe z 50. a 60. let, např. studii KAIZL, Ladislav: *Přepych u šlechty, bída u lidu. Výživa lidu*, roč. 12 (1957), č. 7–8, s. 102–103 a pasáž z publikace SOLNAŘOVÁ, Božena, HRUBÝ, Jiří: *Výživa jako ekonomický problém*. Praha: Svoboda, 1967, s. 78–79.

českoslovenští občané měli možnost získat potraviny (např. masové konzervy, kávu či čokoládu) zejména americké provenience ve vysoké kvalitě bez používání jakýchkoliv náhražek.⁴ Po definitivním převzetí absolutní moci komunistickou stranou v roce 1948 se dále zkomplikovaly již tak dost problematické možnosti dovozu některých cukrářských surovin dovážený ze zámorí. Vedle kávy se to týkalo také kakaa, což vedlo ke snahám nastavovat čokoládu sójou. K tomu však bylo nutno vyvinout novou technologii, která by alespoň částečně zmírnila typicky hořkou příchut' sójových bobů. Tohoto úkolu se ujala patrně nejvýznamnější osobnost českého průmyslu čokolády 1. poloviny 20. století, ing. Milan Čapek, dlouholetý ředitel firmy Orion.⁵ Ještě výraznější propad v zásobování obyvatelstva ovšem přinesl rok 1951, kdy došlo k prudkému posílení tzv. ocelové koncepce hospodářství, tedy zjednodušeně řečeno jednostranné orientace na růst těžkého a zbrojního průmyslu s předpokladem brzkého vypuknutí dalšího globálního válečného konfliktu. Impulsy ke zlepšení životní úrovně obyvatelstva včetně spotřeby potravin a zvýšení jejich průměrné kvality přišly až se změnami v sovětské zahraniční i vnitřní politice po smrti J. V. Stalina v létě roku 1953. Zásadní změny k rostoucímu důrazu na jakost potravin, rozšiřování jejich sortimentu a definitivní vytlačení většiny náhražek ovšem přišlo až v druhé polovině let padesátých.

Ještě I. díl příručky Cukrářství od Mirko Antonína a Václava Lisého, která vyšla v roce 1958, uvádí překvapivě široký rejstřík různých náhražek, byť o většině z nich hovoří jen v minulém čase, jako o typicky válečných produktech. Důležitým prvkem je také rozmlžování pojmu náhražka. Např. o margarinech různých typů a potravinových tucích se zde ale nepíše jako o náhražkách másla či sádla, ale jako o samostatných kategoriích výrobků, jejichž vlastnosti v některých ohledech překonávají přírodní surovinu. Tím se autoři vymezují proti meziválečnému vnímání margarinu a potravinových tuků jako nerovnocenné náhražky, což odpovídalo i oficiálním dobovým tendencím.⁶ Nejednalo se jen o skutečnost, že zejména máslo (nebo obecněji mléčný tuk) patřilo i v druhé polovině padesátých let mezi silně nedostatkové komodity, což bylo dáno i výrazným vzestupem jeho spotřeby.⁷ Leccos ostatně naznačuje i upozornění na nový výrobek tzv. máslo s rostlinným tukem (skládalo se z 40 % másla a 60 % margarinu), jehož výrobu dřívější legislativní předpisy neumožňovaly.⁸ Ve vnímání náhražek autory příručky se však odráží

⁴ Srov. např. KOUROVÁ, Pavlína: Konzervy z UNRRY. Atraktivní zboží z dalekého Západu. *Dějiny a současnost*, roč. 29 (2007), č. 11, s. 12. Všeobecně k působení UNRRA srov. SOMMER, Karel: *UNRRA a Československo*. Opava: Slezský ústav AV ČR, 1993.

⁵ Srov. např. ČAPEK, Milan: Studie o praktickém použití sóje a sójové moučky v průmyslu čokolády, cukrovinek, trvanlivého pečiva a dětských poživatin. *Výživa lidu*, roč. 5 (1950), s. 64–65 a TÝŽ: *Výroba cukrovinek, trvanlivého pečiva, kakaa a čokolády*. Praha: Průmyslové vydavatelství, 1951.

⁶ Naopak spotřebitelé si odstup od margarinů zachovávali. I proto navrhovali představitelé obchodu nepoužívat nadále pojmy margarin a nahradit je obchodními značkami jako Sana či Smetol. Srov. Slovenský národný archív (SNA), f. Povereníctvo obchodu Kolégium povereníka obchodu 1952-60, Kolégium ministra vnútorného obchodu 1953-60, kart. 90, Prověrka sortimentu a balení potravinářského zboží (1955).

⁷ Srov. SNA, f. Povereníctvo obchodu Kolégium povereníka obchodu 1952-60, Kolégium ministra vnútorného obchodu 1953-60, kart. 148, Rozbor spotřeby a návrh opatření ke zvýšení prodeje mléka a mlékárenských výrobků (30. 5. 1959).

⁸ K pozici margarinu a jejím proměnám zejména v německém prostředí srov. PELZER, Birgit, REITH, Reinhold: *Margarine. Die Karriere der Kunstbutter*. Berlin: Verlag Klaus Wagenbach, 2001.

i víra v možnosti vědy a výzkumu nalézt kvalitnější látky než jaké poskytuje samotná příroda.

Na druhé straně však oproti snahám o všemožné úspory M. Antonín a V. Lisý poněkud překvapivě doporučovali snížit podíl vody v másle z tehdy obvyklých 18 % na v cizině běžných 16 %, aby se tak zlepšila jeho trvanlivost.⁹ Tady však musíme oddělit reflexi reálného současného stavu k roku vydání knihy a projekci vývoje v brzké budoucnosti. Pro období druhé poloviny padesátých let byl totiž typický všudypřítomný optimismus ohledně vývoje v nejbližších letech, podporovaný chruščovovskými vizemi o rychlém přechodu ke komunismu (v československém případě nejprve k socialismu).

Jako náhražky tuku tak kniha Cukrářství jen letmo zmiňuje tzv. umělý šmolc, který se však v době vydání již nevyráběl.¹⁰ Hned po válce také zmizel z pultů pro nezáměrné spotřebitelů tukový přípravek Těstola, který se v době okupace označoval také jako Fespa, což byla zkratka za všeříkající německý termín Fettsparmasse, v překladu hmota k úspoře tuku. Skládal se z 50 % cukru, 25 % loje, 5 % sušeného mléka, 4 % sladové moučky, 3 % sójové moučky, 0,1 % kyseliny benzoové a 11,9 % vody. Zdálo by se tedy, že náhražky u tuků považovali autoři za prakticky uzavřenou kapitolu, byť toho dosáhli jenom zařazením margarínu, pokrmových tuků a víceméně i tukových přípravků¹¹ jako samostatných kategorií s určitými přednostmi.¹²

Naproti tomu v případě vajec najdeme v příručce rozsáhlé informace o stále používané náhražce, i když autoři výslovně uvádějí, že může uplatnit v cukrářské výrobě „pouze v mimořádných obdobích, kdy je naprostý nedostatek vaječné suroviny.“¹³ Tato formulace odrážela pravidelné sezónní obtíže s dodávkami vajec v zimním období. Místo čerstvých vajec se tehdy používala vejce chladiřenská, konzervovaná, mražená či sušená. Někdy ale ani to nestačilo, takže ke slovu se dostávaly náhražka označovaná jako Synthova. Ta měla nahrazovat celé vejce zejména v některých druzích pečiva a vařených moučnicích, eventuálně např. v závodních kuchyních nahrazovat pojivou masových či zeleninových jídel.¹⁴ Základ tohoto přípravku tvořilo sušené odstředěné mléko, k němuž se přidával kukuřičný škrob, bobtnavý, tedy částečně hydrolyzovaný škrob, jedlá soda, prášková soda, fosforečnan sodný, kyselina citronová nebo vinná a žloutková

⁹ Na československém trhu bylo ovšem tehdy i máslo výběrové s 14 % vody a minimálně 84,5 % tuku. Jeho podíl na celkové nabídce byl ale minimální. Obvykle se prodávalo tzv. mlékárenské máslo I. a II. jakosti s povoleným podílem vody 18 % a minimálním obsahem tuku 80,5 %. Zbytek tvořily bílkoviny a další příměsi. Rozdíl mezi I. a II. jakostí měl ležet ve smyslovém hodnocení. Protože běžnou technologií získávalo máslo s podílem 16 % vody, zbylá dvě procenta se do něj dodatečně zapracovávala, což přinášelo technologické problémy, a především zvýšenou hrozbu následného mikrobiologického znečištění.

¹⁰ Uvádí se zde, že jde o výrobek ze skupiny pokrmových tuků, přesnější složení však chybí.

¹¹ Z podkapitoly o tukových přípravcích ovšem vyplývá, že v Československu se tehdy ve větší míře tukové přípravky nevyráběly.

¹² ANTONÍN, Mirko, LISÝ, Václav: *Cukrářství. I. díl Suroviny*. Praha: Ústřední rada družstev, 1958. Kapitola o tucích je na s. 71–104.

¹³ ANTONÍN, Mirko, LISÝ, Václav: *Cukrářství*, s. 127.

¹⁴ K Synthově srov. též VAVROUŠEK, Josef, PAČOVÁ, Hana: *Příprava jídel a nápojů ze sušených a zahuštěných mléčných a vaječných výrobků*. 2. přeprac. vydání Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1956, s. 82–90.

potravinářská barva. Příručka Cukrářství hodnotí Synthovu velmi kriticky, jednoznačně uvádí, že kvalita výsledného produktu nikdy nedosahuje úrovně výrobku ze skutečných vajec. Chut' zboží se Synthovou zůstává „prázdná“. Navíc M. Antonín a V. Lisý upozorňují na značné technologické obtíže při využívání této náhražky včetně nutnosti použít větší množství mouky. Jedním dechem se Synthovou je jmenována také náhražka za samotný bílek nazývaná Synblanka (případně Synblanca), i když autoři podotýkají, že v současnosti se již v cukrářské výrobě nevyužívá.¹⁵ Náhražka bílků měla velmi podobné složení jako Synthova, podíl odstředěného sušeného mléka zde byl ale výrazně vyšší. Nepřidávala se k ní jedlá soda a také se pochopitelně nepřibarvovala. Ze Synblanky se připravoval umělý sníh,¹⁶ kniha M. Antonína a V. Lisého však opět upozorňovala na její problematické kvality, jež šlo částečně odstranit přidáním pravých slepičích bílků (při přípravě krémů) nebo vyšší dávkou cukru (u sněhového pečiva). Vedle těchto široce známých přípravků publikace uvádí i pestrý rejstřík náhražek vajec a bílků rozšířených hlavně v éře okupace. Jednalo se kupříkladu německou náhražku bílků Albugen ze sušeného odstředěného mléka a jablečného pektinu s přídavkem kypřicího prášku, další německou náhražku stejného typu se zvukným názvem Wiking připravovanou z masa mořských ryb a nepříjemně páchnoucí po rybině¹⁷ či plazmu z hovězí (či vepřové) krve.¹⁸ Jako prostředek k nastavení bílků se podle textu na trh dostávaly i pektinové přípravky jako Beneta či Pektina. Celá vejce v období okupace pak nahrazoval např. německý Ovosal z 65 % sójové mouky, 20 % sušených bílků, 6 % cukru, 5 % tragantu a malého přídavku kypřicího prášku, který se využíval hlavně do kynutého pečiva a lineckého těsta. Obdobný český produkt nesl obchodní označení Vaja. Autoři uvádějí ještě výčet dalších válečných náhražek většinou ze sušeného mléka, z jedlé želatiny a dalších surovin. Na samý závěr pak zmiňují nejpochybnější náhražku, kterou údajně zpracovávaly za okupace některé cukrárny, tedy tzv. kompozici z čistého klijhu, vody a páleného vápence.¹⁹

Při pročitání knihy se prakticky neustále vnučuje otázka, proč v příručce určené pracovníkům a učňům v cukrářské výrobě uvádějí leckdy dost podrobné popisy již nepoužívaných náhražek.²⁰ Samozřejmě tak vynikly přednosti současného stavu a pozitivní posun od válečného a těsně poválečného období. Zároveň se tak ale uchovávala znalost, která se mohla v případě propuknutí nějaké hlubší krize (např. spojené s válečným konfliktem) ještě hodit. Naštěstí se tak nestalo, a i na začátku šedesátých let,

¹⁵ Nicméně o dva roky starší publikace J. Vavrouška a H. Pačové ji ještě označuje za hodnotnou náhradu vaječného bílku a uvádí návody na její praktické využití. Srov. VAVROUŠEK, Josef, PAČOVÁ, Hana: *Příprava jídel a nápojů ze sušených a zahuštěných mléčných a vaječných výrobků*, s. 90–93.

¹⁶ Ten zmiňuje i podezíravý Gustav Anděl, hlavní hrdina dodnes populární filmové komedie *Dovolená s Andělem* (1952, rež. Bořivoj Zeman). K jeho překvapení však věneček při slavnostním uvítání nových rekreantů obsahuje pravou šlehačku.

¹⁷ Srov. reklamní text na tento přípravek Jak nahradit úbytek sušených bílků. *Cukrářské listy*, roč. 11 (1939), č. 9, s. 25–26.

¹⁸ K využití krevní plazmy srov. Krevní bílky Plasma. *Cukrářské listy*, roč. 13 (1941), č. 2, s. 19.

¹⁹ K vejcím a jejich náhražkám srov. ANTONÍN, Mirko, LISÝ, Václav: *Cukrářství*, s. 105–131.

²⁰ Rozhodnutí odstranit z cukrářských výrobků všechny náhražky, což se odrazilo i v příslušných normách, padlo roku 1955. Srov. SNA, f. Povereníctvo obchodu Kolégium povereníka obchodu 1952-60, Kolégium ministra vnútorného obchodu 1953-60, kart. 90, Zpráva o plnění usnesení strany a vlády ze dne 7. 5. 1954 (23. 5. 1955). Výsledkem byl také zvýšený odbyt cukrářského zboží šlehačkového i máslového. Tamtéž, k. 102, IV. zpráva o plnění usnesení strany a vlády ze 7. 5. 1954 (21. 3. 1956).

při velkých potížích se zásobováním, se razantnější návrat náhražek tuků a vajec, smutně proslulých zejména za 2. světové války, nekonal. Zejména u másla, jak ještě uvidíme, se však nedostatek řešil výrazným poklesem jakosti.

Na počátku padesátých let se otázka jakosti potravin reflektovala v pramenech jen velmi okrajově. Situaci v tomto ohledu poměrně přesvědčivě ilustruje materiál ministerstva vnitřního obchodu věnovaný problému zlepšení jakosti a sortimentu zboží z roku 1952, který se ovšem prioritně zaměřil na zboží průmyslové. Mnohé závěry však bylo možno vztáhnout i na situaci na trhu potravin. Konstatuje se zde, že obchodníci (míněno vedoucí ve státním, eventuálně družstevním obchodě) se oprávněně obávají, že pokud zboží nepřevezmou tak, jak ho zaslal výrobce, tak jiné nedostanou. Jejich situaci zhoršovala skutečnost, že mnoho z nich patřilo mezi bývalé soukromé podnikatele, což je při různých konfliktech výrazně handicapovalo. Materiál přitom v ponurých časech vrcholícího stalinismu nezapomínal ani na temnou pohružku s odkazem na praxi v Sovětském svazu – zde prý je kontrola jakosti mnohem důslednější a dodávání nekvalitních výrobků se posuzuje jako protistátní čin. Můžeme k tomu dodat, že v rámci vykonstruovaných procesů se k tíži mnoha obviněným přičítaly i různé delikty hospodářského charakteru hodnocené jako sabotáž. Krutá ale víceméně nahodilá represe pochopitelně nepřinášela žádný pozitivní efekt, protože hlavní příčiny potíží s kvalitou potravin často ležely právě v základech tehdy tak horlivě prosazovaných hospodářských přeměn, v jejichž rámci byli perzekvováni odborníci a na jejich místa se dostávali jedinci kvalifikovaní pouze svou stranickou legitimací a žádoucím třídním původem. Tragickou situaci dokládá i další dokument ze stejného roku označený Zpráva o plnění usnesení vlády, která byla učiněna k zajištění plynulého zásobování pekárenskými výrobky. Z něj se dozvíme, že celkově je kvalita chleba, tedy naprosto základní potraviny, velice nízká a běžně se v bochnících objevují nečistoty a předměty jako švábi, hřebíky, nedopalky cigaret či kousky provazu. V pečivu zase spotřebitelé nacházeli např. žíně, dehet a písek.

Kontrolou jakosti potravin i dalšího zboží se v první polovině padesátých let se zpočátku zabýval Studijní a zkušební ústav Československého svazu žen, vzniklý z dřívějšího Ústředí československých hospodyň. Studijní a zkušební ústav na principu instituce na ochranu spotřebitele, respektive hlavně spotřebitelek fungoval v rámci ministerstva informací a osvěty, ale samozřejmě jeho možnosti prakticky ovlivnit situaci byly jen iluzorní. I proto činnost na tomto poli na základě podnětu Státní plánovací komise měl převzít v roce 1952 zkušební ústav při ministerstvu vnitřního obchodu, pozdější Výzkumný ústav vnitřního obchodu. I jeho pravomoci však zůstávaly naprosto minimální. Nicméně se tak vytvořil model podřízení kontroly jakosti resortu obchodu, jenž zůstával zachován i v následujícím desetiletí. Od roku 1960 vykonávala kontrolu v oblasti potravin nově zřízená instituce Ústřední kontrola jakosti a vývoje potravin, roku 1965 přejmenovaná na Ústav kontroly a vývoje jakosti potravin, která fungovala v rámci oborového ředitelství Potravinářský obchod.²¹

²¹ *20 let potravinářského obchodu*. Praha: Potravinářský obchod, generální ředitelství, v nakladatelství Merkur, 1968, s. 22.

Výzkumný ústav vnitřního obchodu plnil částečně také úlohu instituce pro výzkum a ochranu spotřebitele, ale na tomto poli se ve sledovaném období angažoval především periodický tisk. Dominantní roli zde hrál humoristický časopis *Dikobraz*, který se ochraně spotřebitele věnoval systematicky celá desetiletí. Ministerstvo vnitřního obchodu kritické rubriky denního tisku i časopisů pečlivě sledovalo a v případě potřeby k nim okamžitě zaujímala stanovisko, stejně jako většina výrobních podniků.

Výzkumný ústav vnitřního obchodu se také podílel na přípravě tzv. jakostních norem na různé druhy zboží, za jejichž podobu byl ovšem meritorně na nejvyšší úrovni zodpovědný Státní úřad pro normalizaci. Vedle státních norem existovaly také podnikové a oborové normy. Systém jakostních norem vybudovaný podle sovětského vzoru nahrazoval dosavadní sbírku všeobecných předpisů o jakosti, tedy Československý potravní kodex. První svazek kodexu však vyšel až roku 1937 (do té doby platil v Československu již poněkud antikvovaný *Codex alimentarius austriacus* z let 1891–1898) a zahrnoval relativně úzký okruh potravin (obsahoval kapitoly Chléb a pečivo, Obiloviny, Luštěniny, Kuchyňská sůl, Čerstvá zelenina, Sušená zelenina, Koření, Obyčejné jedlé houby, Čerstvé a jižní ovoce, Sušené ovoce, Kakao, Káva, Čaj, mate, Cukry a jejich náhražky, Pivo, Petrolej [sic!], Cukrářské zboží a cukrovinky, Kysličník uhličitý, Sodová voda a jiné uměle připravené uhličitě nápoje). Z druhého svazku vyšly později pouze kapitoly Kávoviny, Chmel, Škroby a Slady a sladové přípravky.²² Jak správně upozorňují autoři základní zbožíznalecké příručky z konce padesátých let Mirko Antonín a Václav Lisý, neškolený pracovník potravinářského obchodu však mohl kontrolovat, zda normě odpovídá dodané zboží pouze z hlediska použitých obalů, zda se dodržuje udaný způsob skladování a zde je zboží stále v záruční lhůtě.²³ Skutečné revize jakosti mohli vykonávat pouze školení potravinářští chemici, respektive zbožíznalci, a to pochopitelně pouze namátkově. Velmi důležitou roli ovšem při kontrole jakosti nehraje jenom sledování souladu chemických parametrů výrobku se stanovenou normou, ale také komparace stejného zboží různých výrobců. K té však nemohlo ve sledovaném období docházet přirozeným způsobem v samotných prodejnách, kde by si volili zákazníci zboží té kvality, jež jim nejlépe vyhovuje. V mnoha komoditách totiž tehdy platila tzv. rayonizace, což znamená, že obchod měl předem určen svého dodavatele bez ohledu na představy jeho vedení nebo samotných zákazníků. Rayonizace byla většinou vysvětlována jako racionalizace obchodní logistiky. Navíc vzhledem k všeobecné platnosti základních norem mělo mít zboží vždy svoji kvalitu. Praxe však každodenně ukazovala, že realita vyhlíží odlišně a tuto skutečnost nemohly ani kontrolní orgány dlouhodobě přehlížet. Jestliže nástrojem srovnání stejných druhů zboží různých producentů jsou v současnosti spotřebitelské testy vycházející v různých médiích (např. v tisku nebo v televizi), ve sledovaném období stejně účinkovaly tzv. jakostní přehlídky pořádané v gesci ministerstva vnitřního obchodu a dalších obchodních organizací (např. již zmiňovaného Sdružení potravinářského obchodu). Na rozdíl od současné praxe však byly výsledky přehlídek v principu neverejné, i když v základních obrysech o nich občas tisk referoval.

²² Srov. ANTONÍN, Mirko, LISÝ, Václav: *Nauka o potravinách*. Praha: Ústřední rada družstev, 1958, s. 18–19.

²³ Tamtéž, s. 22.

Důvodem této „zdrženlivosti“ byly podle mého názoru především nepříznivé výsledky těchto jakostních přehlídek, jak uvidíme ještě dále.

Samotné jakostní normy sice nebyly utajovány, ale jejich porušování mohl spotřebitel spíše jen tušit. A už vůbec se nedávala veřejně na odiv existence četných vládních výjimek (schválených obvykle v základních obrysech skutečným mocenským centrem, tedy politbyrem, případně později předsednictvem ÚV KSČ), které celý systém jakostních norem fakticky znehodnocovaly.

Obzvlášť výrazně se neblahá praxe výjimek z jakostních norem rozšířila v době hluboké hospodářské a zásobovací krize na počátku šedesátých let, kdy se výjimky staly jedním z hlavních nástrojů řešení problémů na maloobchodním trhu s potravinami. V tomto příspěvku není prostor na hlubší rozbor příčin této krize a poukazují zde proto pouze na svoje studie, které jsem této otázce věnoval.²⁴ V kostce lze shrnout, že faktorů byla celá řada – jednak šlo o důvody mezinárodněpolitické, zejména o dopady vybudování tzv. Berlínské zdi v roce 1961²⁵ a také o počátky napjatých vztahů mezi sovětským blokem a Čínou, která přitom byla významným dodavatelem některých potravinářských komodit do Československa (např. konzervovaného vepřového masa, čaje, rýže apod.). K tomu se přidala také neúroda v celém regionu trvající několik let. Hlavní roli ovšem sehrál špatný stav československého zemědělství, zejména živočišné výroby jako důsledek druhé definitivní vlny kolektivizace a také nepromyšlenými zemědělskými experimenty inspirovanými chruščovským Sovětským svazem. Československé vedení se ocitlo ve velice komplikované situaci, a dokonce zvažovalo možnost návratu k válečnému a těsně poválečnému přidělovému systému na potraviny. To ovšem politické špičky považovaly za nepřipustné a zrovna tak nechtěly dopustit razantní a okamžité zvýšení cen potravin včetně některých základních komodit. Dobře si totiž uvědomovali, že jejich dosavadní víceméně úspěšná sociální politika se opírala o každoroční snižování cen, umožněné dosti vysoko nastavenou cenovou hladinou z roku 1953. Proto se snažili nutné úspory z největší části zajistit méně nápadným způsobem, tedy povolováním rozsáhlých výjimek z jakostních norem. Toto opatření se v letech 1962–1964 dotklo řady základních potravinářských komodit, především ovšem potravin živočišného původu. Například tučnost konzumního mléka poklesla nejprve z 2,2 % na 2 % a od 1. ledna 1963 byla dále snížena na pouhých 1,8 %, což samozřejmě spotřebitelé silně pociťovali. Podobně se zvýšil povolený obsah vody v másle z 18 na 22 %. K výraznému snížení tučnosti došlo i u dalších výrobků včetně margarínu. Např. u smetanového krému činila nově místo dosavadních 40, pouze 30 %. O pár měsíců později jeho výrobu zrušili a byl zaveden tzv. mléčný krém s obsahem tuku pouze 20 %. Snížení podílu tuku se týkalo také mnohých druhů pečiva. Naopak u vepřového masa se podíl jeho tučných částí zvýšila. Narostla

²⁴ Srov. např. FRANC, Martin: Znovu přidělový systém? Krize v zásobování potravinami v Československu na počátku šedesátých let 20. století. In TŮMA, Oldřich, VILÍMEK, Tomáš (eds.): *Historik v soudobých dějinách. Milanu Otáhalovi k osmdesátým narozeninám*. Praha: Ústav pro soudobé dějiny AV ČR, 2008, s. 30–44.

²⁵ Následkem vyhrocení situace v Německé demokratické republice přesměroval Sovětský svaz do NDR řadu svých dodávek potravin, které původně měly putovat do jiných zemí sovětského bloku včetně Československa. Zároveň své vazaly nutil, aby také podpořily NDR dodávkami svého zboží, včetně potravin.

totiž požadovaná výtěžnost vepřového na úkor sádla.²⁶ To odpovídalo skutečnosti, že právě tento druh chyběl v obchodech nejvíce. To vedlo i k z dnešního hlediska poněkud kuriózní výjimce u některých druhů uzenin např. u spišských párků nebo u gothajského salámu – část vepřového masa zde totiž mělo od 1. ledna 1964 nahradit přece jen dostupnější hovězí. Zhoršila se i předepisovaná jakost měkkého tvarohu kvůli poklesu požadovaného obsahu sušiny z 25 na 21 %. Krize se dotkla také např. jakosti sirupů a stranou nezůstalo dokonce ani pivo, u něhož bylo povoleno nahrazení části sladového sypání do piva do výše až 30 % surogáty. Další výjimky měly přinést úsporu západních valut při dovozu. Proto např. ve vanilkové zmrzlině se již nemusela objevit pravá vanilka stačilo pouhé aroma.²⁷ Do čokolád a čokoládových polev se pak opět začala přimíchávat sójová moučka (v mléčné čokoládě navíc poklesl podíl sušeného plnotučného mléka).²⁸ Spotřebitelé v řadě případů (mléko, nealkoholické nápoje) na zhoršení kvality reagovali snížením spotřeby.²⁹ Řada výjimek přitom zůstávala v platnosti několik let. K 1. červenci 1965 tak platilo ještě 47 různých výjimek³⁰ a jejich počet se snižoval jen relativně zvolna, přestože prakticky u všech jakostních přehlídek potravinářského zboží i v koncepčních materiálech³¹ byl požadován návrat k původní normě.³² Představitelé maloobchodní sítě přitom dokonce požadovali, aby místo výjimek a používání náhražek byla napříště při nedostatku jakostních surovin raději výroba raději rovnou dočasně zastavena.³³ Nicméně ještě v roce 1968 např. platilo zvýšení povoleného obsahu vody v margarínu, což nepříznivě ovlivňovalo kvalitu dalších výrobků, u nichž byl margarín důležitou ingrediencí. Podobně výjimkou povolené zkrácení doby dokvašování piva vedlo k problémům s jeho trvanlivostí a nejvíc spotřebitelé pocítovali ještě v roce 1968 platnou výjimku snižující tučnost mléka z 2,2 na 2 %.³⁴

Jaké výsledky tedy konkrétně přinesly kontroly jakosti vybraných druhů potravin v letech 1965–1966? Obecně se sice hovořilo o postupném celkovém zlepšování kvality oproti krizovému stavu ze samého počátku šedesátých let (zejména v některých oblastech), ale zároveň neutuchaly nepominutelné kritické tóny. Tento trend jasně naznačuje např.

²⁶ Všechny tyto změny projednalo politbyro, respektive předsednictvo ÚV KSČ. Srov. Národní archiv, f. KSČ-ÚV 1945–1989- politické byro 1954–62, sv. 339, arch. j. 429/3.

²⁷ SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 17 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Přehled výjimek z technických norem potravinářských výrobků, platných k 1. 7. 1965.

²⁸ SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 15 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Zpráva o celostátní přehlídce sortimentu čokolád a čokoládových cukrovinek (16. 3. 1965).

²⁹ BIČÍK, Josef: K některým problémům nealkoholických nápojů. *Výživa lidu*, roč. 19 (1964), č. 11, s. 162–163. Na druhou stranu srov. ZÁVODNÝ, Oldřich: Nápoje v dlouhodobém výhledu potravinářské výroby v ČSSR. *Výživa lidu*, roč. 23 (1968), č. 9 a 10, s. 160–161 a 177, kde autor snížení kvality v souvislosti se stagnací respektive mírným poklesem spotřeby nealkoholických nápojů vůbec nezmiňuje.

³⁰ SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 17 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Přehled výjimek z technických norem potravinářských výrobků, platných k 1. 7. 1965.

³¹ Na požadavek postupného opětovného zvyšování jakosti se zaměřila i některá vládní usnesení.

³² Např. výše zmíněný přírůstek sójové moučky byl odbourán již k 1. 3. 1965. SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 15 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Zpráva o celostátní přehlídce sortimentu čokolád a čokoládových cukrovinek (16. 3. 1965).

³³ SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 16 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Koncepce požadavků vnitřního obchodu na sortiment, kvalitu a balení cukrovinek (1965)

³⁴ REŽ, Jaroslav: Jakost a výživa. *Výživa lidu*, roč. 23 (1968), č. 8, s. 133–134.

materiál Vyhodnocení stížností pracujících za II. pololetí 1964,³⁵ který sice konstatoval celkový výrazný pokles stížností oproti stejnému období roku 1962, zejména v dosahu pražské správy podniku Pramen, ale na druhé straně obsahoval rozsáhlý výčet nejrůznějších nedostatků na nejrozličnější druhy potravinářských produktů. Jako již tradičně, nejvíc spotřebitelé kritizovaly kvalitu masa (14 % všech stížností), chleba (8 %) a mléka (7, 5 %), tedy základních potravin. I když se jedná o zprávu z doby poznamenané nadále velkými problémy se zásobováním, podíl stížností na jakost o čtvrtinu převýšil počet projevů nespokojenosti s dodávkami potravinářského zboží na pulty. Zároveň při výčtu konkrétních případů nechybí expresivních vylíčení porušení výrobků cizorodými příměsemi jako např. mouky pískem a červi či máku pískem. Myši se našly např. v láhvi polévkového koření nebo v zavináči. Podmáslí pak „obohatila“ vypadlá plomba a salám zase kousky smaltu.

Pro první polovinu sledovaného období je typickým rysem vysoký podíl produktů, jež vůbec nevyhověly požadavkům norem, a to přes již zmíněná existující změkčení podmínek. V první polovině roku 1965 tak nevyhovělo 71,1 % výrobků Průmyslu trvanlivého pečiva, 37 % produktů Masného průmyslu, 59, 4 % Hydinářského průmyslu, 34, 7 % Cukrovarnického průmyslu, 36 % Pivovarů a sladoven Praha a 34, 2 % zboží z Čs. čokoládooven. Přesto si orgány Sdružení potravinářského obchodu pochvalovaly celkové zlepšení, které se podle nich nejvíce projevilo u kompotů, zvěřinových a drůbežích konzerv (ovšem s výjimkou produkce Severočeských drůbežářských závodů) a dokonce i u pekárenského zboží (ovšem s výjimkou výrobků z Jižní Moravy a ze Slovenska). I nadále se ovšem objevovaly značné kvalitativní výkyvy u piva, mouky, trvanlivého pečiva, cukrovinek, droždí a rybích výrobků. Nejhorší situace ovšem panovala u masa (zde šlo zejména o přetučnělost a o nedbalé opracování, často způsobené diktátem vysoko nastavených výkonnostních norem na jatkách) a masných výrobků, i když po odstranění některých výjimek umožňujících přídavek mouky do masných výrobků došlo i zde k jistému zlepšení. Nicméně rozsah závad zůstával nezanedbatelný, jak dokládá i procento výrobků podniku Masného průmyslu, které nevyhovělo požadavkům norem. Prohřešky padaly na vrub trvanlivým výrobkům, kde více než polovina neuspěla. Podle zprávy se jednalo o nedodržování obsahu tuku a vody, kroužky pod obalem, zamíchané tvrdé šlachy a chrupavky, ale také méně typická až přidušená chuť a vůně.³⁶ Ještě hůře ovšem dopadly játrové paštiky, kde propadly při hodnocení dokonce více než dvě třetiny – zde se jednalo o nedodržování obsahu tuku, vody, soli, hrubé mletí surovin, netypická chuť, koroze vnitřních stěn obalů, ale i o problémy s etiketami. A ještě jeden typ výrobků zápolil se závažnými nedostatky – hotová jídla. Ty

³⁵ SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 17 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Zhodnocení vývoje, jakosti potravinářských výrobků a normalizace za I. pololetí 1965 a plnění usnesení vlády č. 491/63, 616/1964 (1965).

³⁶ Podobné výsledky ukázala i prověrka v roce 1966, kdy dokonce např. v Jihomoravském kraji nevyhovělo 100 % vzorků turistického trvanlivého salámu, spíšské klobásy a moravského uzeného masa. V Praze muselo být pozastaveno 170 kg turistického salámu se zeleným kroužkem, v Západoslovenském kraji z 12 vzorků turistického salámu jich kvůli přetučnělosti neobstálo 10 (z toho 5 i smyslově), lovecký salám ze Žirovnice měl měkký a zelený střed apod. SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 18 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Zhodnocení přehlídek jakosti masných výrobků a testů jakosti (2. 6. 1966).

sice byly hojně propagovány v médiích jako moderní výrobky odpovídající nejnovějším trendům, ale v reálu o ně spotřebitelé nejevily příliš velký zájem. Podle hodnotícího materiálu to bylo možno odůvodnit mj. nízkou kvalitou – nevyhovovala jakost masa jako vstupní suroviny, ani podoba jeho opracování, často ale ani chuť či hmotnost porcí masa. Tento trend se přitom následujícím období spíše prohluboval, a nakonec vedl i k omezení výroby tohoto sortimentu.³⁷ Zpráva kriticky rozebírá jakost i u dalších potravin, zejména živočišného původu, u nichž odchylky od stávajících norem dosahovaly desítek procent – jednalo se např. o jogurty, tvaroh, sýry, ale také o vejce či máslo (zde mj. vadil vysoký obsah vody). Vcelku podle očekávání neobstálo před jakostní kontrolou také více než 63 % zkoumaných zmrzlin.³⁸ Na výsledném obrazu jakosti potravin živočišného původu v prvním pololetí roku 1965 můžeme ještě stále sledovat devastující dopad výše analyzovaných zásahů do kvality výrobků v letech 1962–1964. Zdá se, že někteří producenti si rychle navykli na změkčené podmínky a na obnovený důraz na vyšší jakost reagovali jen neochotně a se zpožděním. Ale přetrvávaly i dlouhodobé potíže s kvalitou pekárenských výrobků, především chleba, které se táhly již od konce čtyřicátých let. V tomto ohledu dospěly problémy tak daleko, že v provozovně Praha-Hostivař musela být přechodně zastavena výroba. Řada potíží s kvalitou měla přitom značný regionální rozměr, týkala se především konkrétních výrobců. Obecně lze konstatovat, že s nižší jakostí a hrubými nedostatky v technologické kázi, což byl tehdy velmi často užívaný pojem, zápolily především závody na Slovensku. I v českých zemích se ovšem našlo nemálo „hříšníků“, hlavně na Moravě. Nicméně ostré kritiky se dočkaly i např. Pražské pekárny a mlýny, Stock Plzeň-Božkov (úroveň pravých vinných destilátů), droždárna v Kolíně, výrobce tuků Kosmos Čáslav či Středočeské pivovary.

Ve srovnání se současností se přitom jen minimum výtek soustředilo na chyby ve značení výrobků, protože pravidla v této oblasti samozřejmě byla podstatně mírnější. Přesto samozřejmě část kritiky směřovala na úroveň obalů, což byl jeden z klíčových problémů v potravinářství po celá padesátá a šedesátá léta 20. století a koneckonců i v desetiletích následujících.³⁹ S tím souvisela i často reflektovaná tematika nedostatku vhodného obalového materiálu, zejména pro některé specifické druhy potravin (zejména mléka). Ale naprostá většina případů nesplnění norem souvisela s nedostatečnou jakostí.

I s částečným ulehčením podmínek pro výrobce v podobě jakostních výjimek výsledky jakostních zkoušek z let 1965–1966 jasně ukazují na mnohé vážné problémy potravinářské výroby, i když míra prohřešků se silně lišila u jednotlivých potravinářských

³⁷ Srov. SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 18 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Výsledky kontroly jakosti hotových jídel (1966) a Tamtéž, kart. 20 (Gremiální porady Potravinářského obchodu o. ř.), inv. č. 88, Koncepce požadavků vnitřního obchodu na sortiment, jakost a balení rybích a mrazírenských výrobků (1966).

³⁸ Zde se situace v následujícím období mírně zlepšovala, ale i tak v Jihomoravském kraji a na Slovensku nevyhověla v roce 1966 normám více než polovina odebraných vzorků. SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 18 (Gremiální porada Sdružení potravinářského obchodu), Kontrola jakosti zmrzlin celostátně (1966). Srov. i Tamtéž, kart. 20 (Gremiální porady Potravinářského obchodu o. ř.), inv. č. 88, Následná kontrola jakosti zmrzlin III. čtvrtletí 1966.

³⁹ Srov. SNA, f. Povereníctvo SNR pre obchod 1964–1968, kart. 20 (Gremiální porady Potravinářského obchodu o. ř.), inv. č. 91, Komplexní ekonomický rozbor za rok 1967 (únor 1968).

výrobců. Tento stav nebyl nějakým dobovým specifikem a spíše se v něm odrážel dlouhodobý negativní vývoj a pochopitelně hlavně krizová situace v první polovině šedesátých let, kdy došlo v některých oblastech až k technologickému rozvratu a rezignaci na základní kvalitativní požadavky.

Specifický problém, jenž ovšem úzce souvisel s problematikou kvality potravin v šedesátých letech, představoval vývoj sortimentu, přesněji řečeno jeho zužování, v některých oblastech (např. v nealkoholických nápojích) dost razantní.⁴⁰ Na jedné straně se jednalo o racionální reakci na obrovskou záplavu nových výrobků z druhé poloviny padesátých let. V mnoha případech totiž nebylo reálné zajistit dostatek potřebných surovin, jiné výrobky se do značné míry chuťově i kvalitativně překrývaly s jinými. Na druhou stranu však často bylo zužování sortimentu využito k vyřazení nejjakostnějších výrobků, které přinášely z hlediska výrobců příliš nízký zisk.

Na konci šedesátých let se nicméně zdálo, že se situace začíná pomalu obracet k lepšímu a odbourávání stávajících výjimek se tak zdálo kráčet ruku v ruce s větším respektem k existujícím normám. Podíl potravinářských výrobků, které podle Státní inspekce jakosti neodpovídaly normám, se mezi roky 1964 a 1967 snížil z 33,2 % na slušných 15 %.⁴¹ Snad se mohlo alespoň částečně jednat o pozitivní dopad ekonomických reforem přinášejících i do potravinářství tržní prvky a určité uvolnění při tvorbě cen. Svoji roli snad sehrával i možný tlak vyplývající z většího otevření trhu zahraničním dovozům. Některé kvalitativní problémy však zůstávaly. Podle Ústavu kontroly a vývoje jakosti potravin, který fungoval v rámci Potravinářského obchodu, v roce 1967 nevyhovělo požadavkům norem jakosti např. 78,5 % konzervovaných vajec, 52,3 % ovocných pomazánek, 33,6 % masných výrobků (bez konzerv) či 27 % masových konzerv.⁴² V roce 1968 se hovořilo stejně jako o jiných hospodářských problémech o jakosti potravin s větší otevřeností. S posilujícími kontakty se západním světem navíc také kvalitativní měřítko začaly vybočovat z pohodlného domácího rámce. A jak podotkl poměrně nemilosrdně odborník na jakost potravin Jindřich Rež „Současný stav jakosti potravinářských výrobků nedosahuje také ve svém průměru úrovně, odpovídající kulturní a hospodářské úrovni i vyspělosti našeho státu.“ Srovnání se špičkovou světovou úrovní podle něj snesla jen hrstka domácích výrobků jako některé uzenářské speciality (velmi úspěšně se vyvážela např. pražská šunka v konzervách), exportní druhy piva, některé značkové lihoviny či určité čokoládové výrobky.⁴³

Příliš se nedařilo ani přizpůsobování složení potravinářských výrobků požadavkům správné výživy. Naopak některé kvalitativní problémy (zejména snížená trvanlivost) spojovali technologové např. se snížením obsahu cukru apod. Jindy zase argumentovali,

⁴⁰ Srov. např. BÍČÍK, Josef: K některým problémům nealkoholických nápojů. *Výživa lidu*, roč. 19 (1964), č. 11, s. 162–163; ILČÍK, Teodor: Ako sa vyvíja výroba a sortiment nealkoholických nápojov. *Výživa lidu*, roč. 19 (1964), č. 7, s. 102–104 či ZÁVODNÝ, Oldřich: Nápoje v dlouhodobém výhledu potravinářské výroby v ČSSR. *Výživa lidu*, roč. 23 (1968), č. 9 a 10, s. 160–161 a 177.

⁴¹ REŽ, Jaroslav: Jakost a výživa. *Výživa lidu*, roč. 23 (1968), č. 8, s. 133–134.

⁴² Tamtéž.

⁴³ Tamtéž, s. 133.

že cukr a další nežádoucí ingredience by bylo nutno nahradit vysokojakostní surovinou, což by některé výrobky dramaticky zdražilo.⁴⁴

Zatím bohužel stav výzkumu nedovoluje přesně určit, jak se situace vyvíjela na počátku let sedmdesátých a zlepšování vlivem vyššího výkonu domácího zemědělství můžeme jen předpokládat, zcela jednoznačný se však jeví negativní trend v druhé polovině tohoto desetiletí v souvislosti s novými ekonomickými obtížemi.

Práce vznikla za přispění grantového projektu GA ČR 20-17501S Dějiny výživy a stravování v českých zemích 1945–1970

Kontaktní adresa: franc@mua.cas.cz

⁴⁴ Srov. DĚDEK, Miroslav: K připravované novelizaci usnesení vlády č. 69/65. *Výživa lidu*, roč. 23 (1968), č. 11, s. 185–186 a Archiv AV ČR, f. Ivan Málek, kart. 220, inv. č. 4415, materiál Institutu pro racionalizaci výživy Zpráva o plnění vládního usnesení č. 69/65 o zajištění racionální výživy obyvatelstva (1967). Srov. též FRANC, Martin: *Řasy, nebo knedlíky? Postoje odborníků na výživu k inovacím a tradicím v české stravě v 50. a 60. letech 20. století*. Praha: Scriptorium, 2003, zejména s. 98.

Kvalita potravin

Food quality

Pivoňka Jan, Hrubá Magdalena

Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická
3, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Souhrn

Důvěra spotřebitelů v kvalitu potravin je ovlivňována celou řadou faktorů, přičemž samotné vlastnosti produktu hrají v celém procesu jen částečnou roli. Podstatné pro rozhodování spotřebitelů je komplexní vnímání zboží v souvislostech kulturních, environmentálních a sociálních. Spotřebitelé při svém rozhodování čerpají informace především z veřejně dostupných zdrojů umístěných především na internetu. Důležitým faktorem ovlivňující kupní chování části spotřebitelů jsou především informace na sociálních sítích. Výzkumy rovněž poukazují na skutečnost, že většina veřejnosti nedokáže správně interpretovat a nakládat s informacemi uvedenými na obalech a proto se při rozhodování o koupi řídí především značkami výrobků případně propůjčenými značkami kvality. Obsah těchto značek však nebývá vždy dobře definován a ani interpretován spotřebiteli.

Summary

Consumer confidence in food quality is influenced by a number of factors. The product characteristics themselves play only a part in the process of product understanding. Complex perception of goods in cultural, environmental and social contexts is essential for consumers' decisions. In their decision-making, consumers mainly draw on information available from publicly available sources, mainly on the internet. An important factor influencing the purchasing behavior of some consumers is mainly information on social networks. Research also points to the fact that the majority of the public is not able to correctly interpret and handle the information given on the packaging. Therefore purchasing decision is guided primarily by product brands or quality labels. However, the content of these brands is not always well defined or well interpreted by consumers.

Klíčová slova: *kvalita potravin, značka kvality, důvěra spotřebitele.*

Kvalita potravin zahrnuje mnoho přímých i nepřímých parametrů, které ovlivňují vlastnosti výrobku a její význam má mezi odborníky mnoho definic. Kvalita je v současné době definována mnoha jednotlivými znaky, které zahrnují nejen vnitřní znaky potravin, ale rovněž související informace zahrnující interakci mezi kulturními postoji, genetické a environmentální faktory. Definice kvality potravin se v čase dynamicky vyvíjí. Na tuto

skutečnost reagují i normy, které se problematice kvality věnují a definice se postupem času mění.

Vnímání kvality lze rozlišit na objektivní a subjektivní. Objektivní hodnocení se vztahuje k fyzikálním vlastnostem, nutriční hodnotě, bezpečnosti výrobků, době trvanlivosti a ostatním faktorům, které se týkají výrobku a lze je upravit pomocí technologických změn osobami kompetentními k dané problematice, a které nejsou spojeny s vnímáním lidskými smysly. Subjektivní kvalita je spojena s tím, jak spotřebitelé výrobek vnímají a jak je vnímán lidskými smysly. Jedná se tedy o jakýsi střet mezi vědou a technologií na straně jedné a na straně druhé, jak je výrobek přijímán spotřebitelem, který určuje jeho míru přijatelnosti, přičemž ke správnému a efektivnímu plnění cílů by se tyto faktory měly spojit.

Agropotravinářský průmysl si je těchto souvislostí dobře vědom a v řadě případů tak dochází během propagace produktů k „idealizaci“ prostředí, ve kterém výrobky vznikají. V rámci otevřeného mediálního prostředí jsou však spotřebitelé konfrontováni s realitou některých zemědělských postupů nebo výrobních závodů, které jsou v přímém rozporu s očekáváním založeným na reklamě. Tento rozpor vede k posilování nedůvěry v celý agropotravinářský sektor. Celou situaci nezlepšuje ani skutečnost, že současní zákazníci/spotřebitelé jsou obvykle již velmi vzdáleni agropotravinářské produkci a nemají tudíž možnost vytvořit si obrázek na základě vlastní zkušenosti a pozorování v praxi. Tento fakt je průvodním jevem globalizace, která navázala na industrializaci výroby potravin a prohloubila informační příkop mezi výrobcí a konzumenty. Již samotná industrializace výroby byla příčinou mnoha pochybení na straně průmyslu a ve svém důsledku mnohdy vedla i k ohrožení zdraví konzumentů a to v době, kdy většina výroby probíhala v regionu, kde zároveň probíhala i spotřeba. S rozvojem logistiky a globálního obchodu dochází k vytváření složitých obchodních vazeb a navzdory požadavkům legislativy se stává, že během obchodování dochází ke ztrátě jednoznačné stopy mezi zdrojem a spotřebitelem. Příkladem může být nedávná aféra s koňským masem nebo dovozy vína a hroznů, které jsou následně prodávány jako české. Možností jak posílit důvěru spotřebitelů v průmyslově vyráběné potraviny se nabízí celá řada. V první řadě se jedná o dnes již hojně podporované zkracování dodavatelských řetězců. Nové technologie však již prostřednictvím sdílení a zpracování velkých objemů dat umožňují efektivně sledovat osud zboží v celém dodavatelském řetězci. Aplikace takových opatření zejména na mezinárodní úrovni je však velmi obtížná nejen z manažerského, ale i politického hlediska. Proto jsme svědky takto transparentního systému zejména u krátkých řetězců obvykle na lokální úrovni. Z pohledu efektivity celého procesu posílení důvěry spotřebitelů hrají nemalou roli i poznání způsobu rozhodování spotřebitelů a vzdělání v oblasti potravinářských technologií.

Výzkumy v oblasti vzdělanosti a informačních zdrojů využívaných spotřebiteli ukazují, že konzumenti obecně více důvěřují informacím poskytovaným na internetu a na sociálních sítích. Tato oblast je však s ohledem na poskytování informací jen velmi málo regulovaná a odpovědnost poskytovatelů/zprostředkovatelů informací je velmi limitovaná. Důsledkem je poskytování mnohdy nepravdivých, nesprávně interpretovaných a zavádějících informací, které nedůvěru spotřebitelů posilují. Mnohdy jsou tyto praktiky používány i v rámci nekalé propagace okrajových a alternativních výživových směrů, přičemž zdroj informací bývá účelově zamlčen. Spotřebitelé se

v důsledku této činnosti obracejí často k výživě a výživovým směrům, které jsou v rozporu s všeobecně uznávanými doporučeními pro správnou výživu a zdravý životní styl.

Legislativa přitom definuje celou řadu informací, které jsou spotřebitelům na obalech potravin poskytovány tak, aby mohl vykonat „informované“ rozhodnutí o koupi. Bohužel informace v této podobě jsou často pro spotřebitele těžko srozumitelné a ve správné interpretaci a doporučeních se často plete i odborná veřejnost. Výzkumy ukazují, že na přímou otázku většina spotřebitelů odpovídá, že informace na etiketách čte a rozhoduje se na základě takto poskytnutých informací. Avšak porovnání těchto informací se skutečným rozhodovacím procesem docházíme k závěru, že tomu tak není a pro většinu spotřebitelů je klíčová předchozí zkušenost vázaná na konkrétní brand nebo propůjčené značky kvality. Propůjčení značky a propagace produktu a to zejména na sociálních sítích tak hraje roli významnější, než jsou informace na obalech nebo fakta zahrnutá v odborných zprávách nebo doporučeních odborných společností nebo státních organizací.

Tento fakt byl prokázán i v sérii vlastních výzkumů, které jsme provedli dotazováním několika set spotřebitelů, které bylo provázeno i senzorickým hodnocením a posouzením hodnoty výrobků. Na vybraných příkladech je možné ilustrovat, že spotřebitelé uvádějí obvykle v dotazníku „idealizované“ informace a spíše odpovídají tak jak se očekává, že by měli odpovědět, než jak se reálně rozhodují.

Vzhledem k této skutečnosti se celá řada obchodníků, asociací, národních i mezinárodních subjektů pokouší s různým úspěchem vytvářet značky kvality, které by spotřebitelům rozhodování usnadnily. V řadě případů však nejen chybí jakákoliv pravidla pro udělování značek, ale i jakýkoliv obsah, který by bylo možné spotřebiteli srozumitelně komunikovat. Přesto jsou mnohé z těchto značek mezi spotřebiteli známé a někteří je dokonce cíleně vyhledávají, aniž by měli o skutečném obsahu značky povědomí. Bohužel se však stává, že spotřebitelé nerozumí ani obsahu značek, které garantuje Český stát nebo Evropská unie. Obecně můžeme značky kvality rozdělit na značky, které se vztahují k výrobnímu procesu a jeho vlivu na životní prostředí (např. BIO/EKO), značky, které se vztahují k původu surovin nebo místu zpracování potravin (např.: CHZO, CHOP, regionální potravina), značky odkazující na tradiční výrobní postupy (např. ZTS, ČCN) dále značky odkazující na obecně kvalitní provedení naplňující předpokládané očekávání zákazníků (např. Klasa, Česká chuťovka), značky odkazující na vhodné výživové složení (Vím co jím) nebo značky, které těží z obav spotřebitelů z přídavných látek (např.: FÉR potravina).

Závěrem lze tedy shrnout, že důvěru spotřebitelů v kvalitu potravin ohrožují především netransparentní dodavatelské vztahy a opakující se kauzy spojené s agropotravinářským sektorem. Mediem využívaným přednostně spotřebiteli, kteří chtějí nakupovat na základě informovaného rozhodování je především internet a sociální sítě. Pro většinu populace je dominantní pro rozhodování o koupi značka, pod kterou je výrobek prodáván, přičemž ostatní údaje bývají nesprávně pochopené nebo nesprávně interpretované a to včetně značek kvality.

Literatura

- ULBERTH Franz: Results of an EU wide comparison of quality related characteristics of food products; Publications Office of the European Union, 2019
- Giusti, A.; Bignetti, E.; Cannella, C. Exploring New Frontiers in Total Food Quality Definition and Assessment: From Chemical to Neurochemical Properties. Food and Bioprocess Technology 2008, 2, 130-142.
- Valentová M: Systémy hodnocení kvality potravin a jejího vnímání spotřebiteli, Praha 2018, Diplomová práce, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav konzervace potravin; Vedoucí práce: Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.
- MYLONA Kalliopi, MARAGKOUDAKIS Petros-Achillefs, BOCK Anne-Katrin, WOLLGAST Jan, LOURO CALDEIRA Sandra, ULBERTH Franz: Delivering on EU Food Safety and Nutrition in 2050 - Future challenges and policy preparedness; Publications Office of the European Union, 2016

Nejčastější původci virových alimentární infekcí

The most common agents of viral alimentary infections

Anna Ogrocká, Petra Vašíčková

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

Souhrn

Alimentární infekce (v angličtině foodborne infections) jsou infekce způsobené konzumací mikrobiálně kontaminovaných potravin a vody. Nejčastějšími typy onemocnění, která vyvolávají touto cestou viry, jsou gastroenteritidy a hepatitidy. Jejich původci jsou v případě gastroenteritid zejména noroviry a v případě hepatitid viry hepatitidy A a E.

Noroviry jsou neobalené RNA viry způsobující po celém světě akutní gastroenteritidy. Noroviry jsou nejčastějšími nebakteriálními původci epidemií v kolektivních zařízeních pro děti a seniory. Přenos nákazy probíhá fekálně-orální cestou. Protože pro vyvolání infekce stačí velmi nízká infekční dávka, je možné se nakazit i prostřednictvím infekčního aerosolu. Vehikulem nákazy se mohou stát kontaminované potraviny i voda.

Původcem hepatitidy A je neobalený RNA virus, odolný k zevnímu prostředí. Jedná se o výhradně lidský patogen. Šíří se fekálně-orální cestou, kontaktem s infikovanou osobou, kontaminovanými potravinami a vodou, rizikovými sexuálními praktikami nebo krví a krevními deriváty. Proti hepatitidě A se lze chránit očkováním.

Původcem hepatitidy E je neobalený RNA virus. Infekce je nebezpečná hlavně v těhotenství, kdy ohrožuje život matky i plodu. Přenos je opět fekálně-orální cestou, kontaminovanými potravinami nebo vodou. Zdroj infekce může být humánní i zoonotický. V současné době jsou v Evropě za přírodní rezervoáry viru pokládána prasata a jelenovití, rizika infekce se vztahují zejména na konzumaci nedostatečně tepelně upraveného masa a vnitřností.

Protože jsou obvykle v potravinách a vodě viry přítomné v nízkých koncentracích, používají se k jejich detekci molekulární metody jako RT-qPCR. Pro detekci norovirů a viru hepatitidy A ve vybraných potravinách existují validované ISO metody, které by se mohly stát východiskem pro detekci širšího spektra virů v potravinách a vodě.

Práce vznikla za podpory Agentury pro zdravotnický výzkum České republiky i.č. NV17-31921A

Summary

Foodborne infections are infections caused by the consumption of microbially contaminated food and water. The most common types of diseases that are caused by viruses in this way are gastroenteritis and hepatitis. Noroviruses (NoV) are mainly responsible for gastroenteritis and hepatitis A and E viruses (HAV and HEV) are responsible for hepatitis.

Noroviruses are non-enveloped RNA viruses causing acute gastroenteritis worldwide. Noroviruses are the most common non-bacterial agents of epidemics in collective facilities for children and seniors. The infection is carried out via the fecal-oral route. Since a very low infectious dose is sufficient to induce infection, it is also possible to be infected by an infectious aerosol. Contaminated food and water can become the vehicle of infection.

The causative agent of hepatitis A is the non-enveloped, environmentally resistant RNA virus. It is an exclusively human pathogen. It spreads via the fecal-oral route, contact with the infected person, contaminated food and water, risky sexual practices or blood and blood derivatives. A safe and effective vaccine is available to prevent hepatitis A.

The causative agent of hepatitis E is the non-enveloped RNA virus. Infection is particularly dangerous during pregnancy, when it threatens the life of both mother and fetus. Transmission is again via the fecal-oral route, contaminated food or water. The transmission of infection can be both human and zoonotic. Currently, pigs and cervids are considered to be the natural reservoirs of the virus in Europe; the risk of infection relates mainly to the consumption of poorly cooked meat and livers.

Since viruses are usually present in low concentrations in food and water, molecular methods such as RT-qPCR are used to detect them. For the detection of noroviruses and hepatitis A virus in selected foods, there are validated ISO methods that could become the basis for detecting a wider spectrum of viruses in food and water.

The work was supported by the Czech health research council , I.N. NV17-31921A.

Detekce virů způsobujících alimentární infekce v mase a masných výrobcích

The detection of foodborne viruses in meat and meat products

Miroslava Krzyžánková, Petra Vašíčková

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

Souhrn

Pro zamezení propuknutí alimentárních virových nákaz je důležitá spolehlivá detekce příslušného agens. Jelikož většina virových patogenů způsobující onemocnění z potravin (noroviry, viry hepatitidy typu A, E) je na buněčných kulturách kultivovatelná zdlouhavě a obtížně, tvoří hlavní způsob jejich detekce pomocí RT- qPCR.

K průkazu virů ze vzorků potravin se používá mezinárodní standardizovaná metoda ISO/TS 15216:2017. Tato metoda je standardizována k průkazu virových agens v drobném ovoci, listové zelenině, stěrech z prostředí, pitné vodě a mlžích.

Bohužel pro velkou skupinu potravin, jako je maso, masné výrobky a hotová jídla, validní a standardizované metody zatím chybí. Proto se na našem pracovišti zabýváme studiem a optimalizací metod, které umožní detekci virů v mase a masných výrobcích. V našem výzkumu jsme porovnali pět různých metod oplachu matrice, v kombinaci s šesti druhy masných výrobků, s cílem vybrat vhodnou metodu, která poskytne validní výsledky analýzy. Zjistili jsme, že pro matrice masa a masných výrobků představuje nejvhodnější metodu oplach matrice roztokem obsahujícím TRIreagent®.

Práce vznikla za podpory Agentury pro zdravotnický výzkum České republiky i.č. NV17-31921A a Technologické agentury České republiky, Program Gama – Proof of Concept, i.č. TG03010038.

Summary

The reliable detection of foodborne viruses is important to prevent the consequences of disease outbreaks. For the majority of foodborne viruses (Norovirus, Hepatitis A virus, Hepatitis E virus) does not exist cell culture system for routine detection, its detection is reliant on molecular methods using quantitative reverse transcriptase PCR.

For the determination of hepatitis A virus and norovirus in food, the international standardized method ISO/TS 15216:2017 is available. This method is standardized for soft fruits, salad vegetables, food surfaces, bottled water and bivalve mollusks.

Unfortunately, for substantial group of foods (food matrices), e.g meat, meat products and ready-to-eat meals, the valid and standardized method is still not available. Therefore,

in our research group we work on the optimization of method for the detection of foodborne viruses in meat and meat products. In our research, we have compared five different isolation procedures in the combination with six kinds of meat/meat products. The aim was to find the most available method, which serves valid analysis results. We have found, that for the matrices of meat and meat products, the most suitable method is the rinsing of the matrices with a solution containing TRIreagent®.

The work was supported by the Agency for Health Research of the Czech Republic, incl. NV17-31921A and Technology Agency of the Czech Republic, Gama Program - Proof of Concept, i. TG03010038

Nové netermální směry zpracování potravin – využití bakteriofágů

New non-thermal directions of food processing – using of bacteriophages

Musila Petr, Beňo Filip, Hrubá Magdalena, Pivoňka Jan

Ústav konzervace potravin, FPBT, VŠCHT Praha

Souhrn

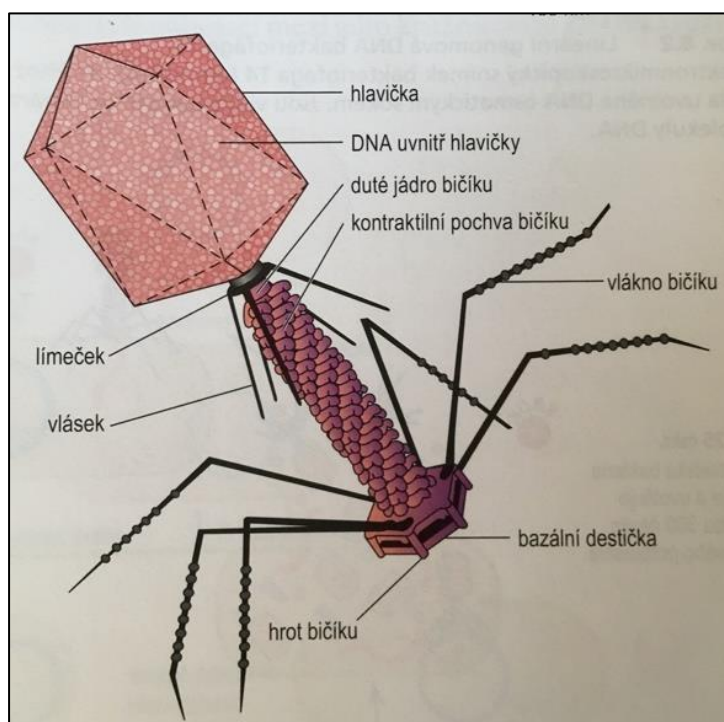
Bakteriofágy jsou viry bakterií a svým počtem se řadí mezi nejpočetnější entity na světě. Mechanismus jejich účinku je vysoce specifický, čehož se začíná využívat i v potravinářském průmyslu, a to především ke snížení mikrobiální kontaminace specifických druhů mikroorganismů (např. *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *E. coli*). Aplikace probíhá v podobě postřiku či máčení surovin roztokem obsahujícím fágy. Nejvíce legislativně schválených přípravků je v USA, avšak tento trend přichází již i do Evropy. V rámci dosavadní práce byla zpracována rešeršní část týkající se problematiky ohledně fágů a jejich účinek na vybrané mikroorganismy. Dále byl zjištěn seznam výrobců, kteří se danou problematikou zabývají a na základě toho byl získán přípravek LISTEXTM (proti *Listeria spp.*) od holandské firmy PhageGuard. Následně byla ověřena účinnost tohoto přípravku v laboratorních podmínkách pomocí plotových metod a měření růstových křivek v bioreaktoru Biosan RTS-1C. Aplikace přípravku LISTEX snižovala počet mikroorganismů o 1 řád.

Summary

Bacteriophages are bacterial viruses and, by their number, are among the most numerous entities in the world. The mechanism of their action is highly specific, which is also being used in the food industry, in order to reduce microbial contamination of specific species of microorganisms (eg *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *E. coli*). The usual ways of application are spraying or soaking the raw materials with a phage-containing solution. The most legally approved products are in the USA, but this trend is already coming to Europe. Until now the research part has been prepared concerning phage problems and their effect on selected microorganisms. In addition, a list of manufacturers dealing with this issue was identified and LISTEXTM (against *Listeria spp.*) was obtained from the Dutch company PhageGuard. The efficacy of this product was tested under laboratory conditions using fence methods and measurement of growth curves in a Biosan RTS-1C bioreactor. The presence of LISTEX reduced the number of microorganisms ten times.

ÚVOD

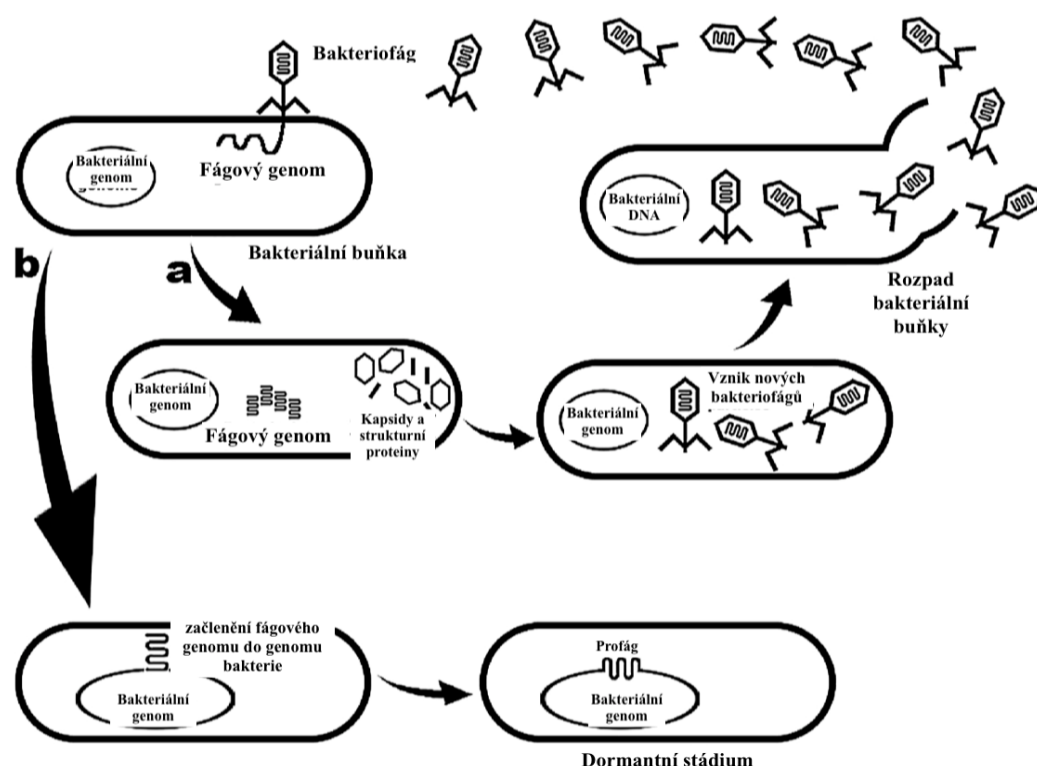
Bakteriofágy jsou viry bakterií a nejhojněji zastoupenou skupinou biologických entit na světě. Svým počtem převyšují bakterie desetkrát. Vyskytují se ve všech podmínkách a prostředích a zejména v těch, kde mají vhodné podmínky k životu jejich hostitelé (bakterie) (Fister et al., 2019). Dle jejich životního cyklu se bakteriofágy dělí na dva základní typy, a to na virulentní nebo temperované. Virulentní bakteriofág (neboli T4 fág) působí tak, že po vniknutí do hostitelské buňky se množí až do doby, kdy způsobí usmrcení a rozpad bakteriální buňky. Takovýto životní cyklus se nazývá lytický a je specifický zejména pro T4 fágy (**Obr. 1**). Druhým typem fágu jsou tedy temperované fágy (neboli lambda fágy), které mohou buď usmrcovat buňky jako T4 fágy a podléhat tedy stejnému životnímu cyklu nebo mohou vstupovat do specifického vztahu s hostitelskou buňkou, kdy po vniknutí do buňky svůj genom pouze replikují spolu s genomem hostitelských buněk během každého buněčného dělení. Tento cyklus se nazývá lyzogenní, je charakteristický právě pro lambda fágy a v potravinářství je nežádoucí. Tvary bakteriofágů, které infikují bakterie, jsou většinou vláknité nebo ikosahedrální, kde bakteriofágy tvaru ikosahedru mohou obsahovat ocase a ocasní vlákna různých forem a délek (Goldbourn, 2019).



Obrázek 1.: Struktura virulentního bakteriofágu (T4)
(SNUSTAD, D. Peter et al., 2009)

Jak je uvedeno výše, mechanismus jejich účinku může mít dvojí charakter průběhu, a to lytický nebo lyzogenní cyklus (**Obr. 2**). Lytický cyklus (**Obr. 2a**) spočívá v připojení bakteriofágu na specifický receptor bakteriální buňky. Buněčná stěna se natráví a DNA je

z hlavičky fágu vypuzena do buňky (obal zůstává venku). Uvnitř bakterie se fágová DNA přepíše do specifické virové mRNA (transkripce) a na ribozomech se začne tvořit specifická virová bílkovina na tvorbu kapsidu (translace). Pak proběhne replikace fágové DNA, která kondenzuje do klubíčka a proběhne kompletace virionů (maturace) s následným rozpadem buňky (lyzí) a uvolněním cca 300 nových virionů do mezibuněčného prostoru (Harada et al., 2018).



Obrázek 2. Mechanismus účinku bakteriofágů; a) lytický cyklus, b) lyzogenní cyklus (Harada et al., 2018)

Zatímco při lyzogenním cyklu (**Obr. 2b**) se fágová DNA nereplikuje, ale začlení se do chromozomu bakterie. Ta se pak přenáší do dceřiných buněk a označuje se jako profág. Bakteriální buňka obsahující profág je imunní vůči infekci stejným fágem a označuje se jako lyzogenní. Lyzogenní bakterie může buď spontánně či vlivem indukčních činitelů (fyzikální a chemické) přejít do lytického cyklu, profág se vyčlení z chromozomu a replikuje se jako v lytickém cyklu (**Obr. 2a**) (Harada et al., 2018).

Pro potravinářské aplikace jsou vhodné zejména T4 fágy, jelikož usmrcují bakteriální buňky. Ačkoliv je ve většině případů jejich přítomnost při výrobě potravin nežádoucí (zejména u potravin, podléhajícím fermentaci), tak díky jejich specifitě se ukázalo, že vybrané druhy bakteriofágů mohou být efektivně využiti proti patogenním bakteriím,

kteře představují trvalé riziko pro bezpečnost a výrobu potravin (de Melo et al., 2018). Stále se zvyšující používání bakteriofágů v potravinářském průmyslu přináší výhody, dle kterých je lze považovat za alternativní třídu antibakteriálních látek. Na rozdíl od běžně používaných chemických a fyzikálních metod ošetření potravin mají bakteriofágy vysokou specifickou hostitele. Působí pouze na určitý typ bakterie a neovlivňují další složky potravin, jako jsou vitamíny, enzymy a další přirozeně se vyskytující složky (Harada et al., 2018). Aplikace bakteriofágů může být velmi účinná metoda ke snížení počtu mikroorganismů a dokonce může omezit růst bakterií v biofilmech, které jsou obecně odolné vůči běžně používaným antibiotikům a sanitacím prostředkům. Metodu aplikace bakteriofágů do potravin lze tedy zařadit mezi šetrné netermální metody ošetření potravin (Fister et al., 2019).

Od roku 2006, kdy USFDA (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv v USA) schválil bakteriofágový koktejl (několik virulentních bakteriofágů) jako konzervační prostředek pro potraviny, je pro ošetření potravin proti patogenům komerčně k dispozici stále větší počet bakteriofágových produktů. Aplikaci bakteriofágových koktejlů je možné provést v různých stádiích zpracování, od primární zemědělské produkce až po balení. Použití koktejlů bakteriofágů než jediného bakteriofágu je silně doporučováno, aby se omezil výskyt kmenů rezistentních vůči bakteriofágům, a také kvůli zvýšení účinnosti (de Melo et al., 2018).

Materiály a metodika

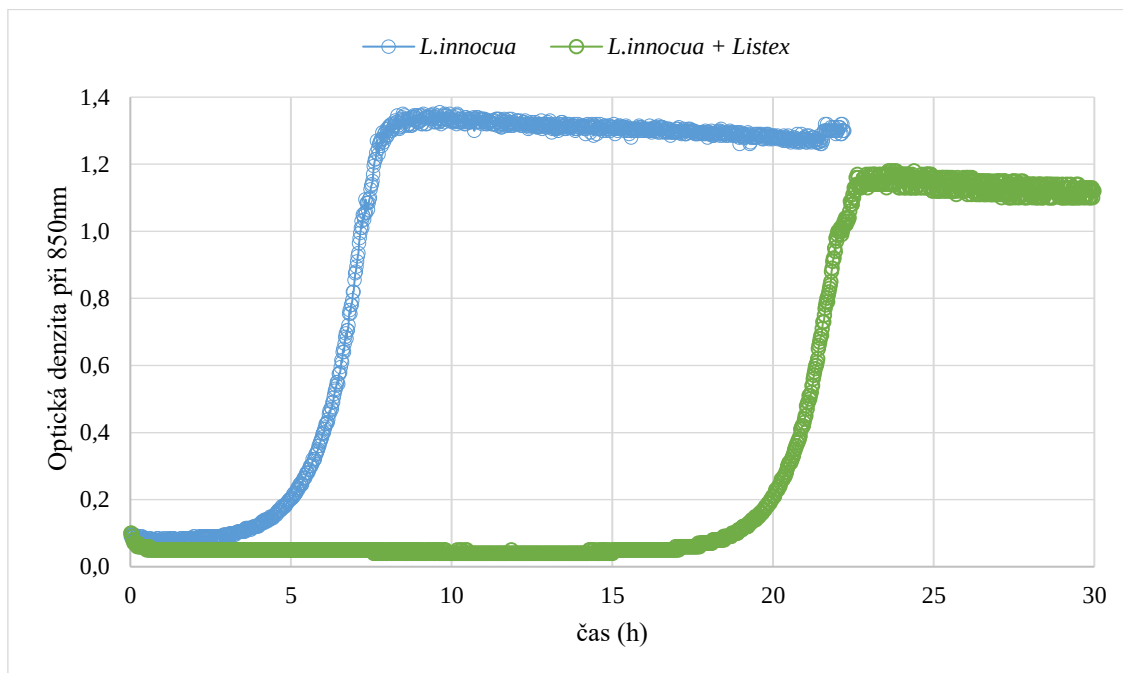
K určení působení bakteriofágů vůči bakteriím byl použit přípravek od holandské firmy Microcos Food Safety, a to PhageGuard LISTEX. Přípravek bakteriofágů je určen proti bakteriím rodu *Listeria*. K ověření účinnosti přípravku byly změřeny růstové křivky bakterií (*L. innocua* ATCC 33090, počáteční koncentrace $5,3 \cdot 10^6$ KTJ/ml), a to bez a s přidavkem přípravku LISTEX. Měření probíhalo na bioreaktoru Biosan RTS-1C při řízené teplotě 37°C a rotaci 2000 rpm. Výsledkem je záznam růstové křivky, která zobrazuje závislost změny optické denzity na růstu počtu mikroorganismů. Optická denzita je měřena při vlnné délce $\lambda = 850$ nm, čímž se eliminuje zabarvení kultivační pěstí a možné zamléčnění zkumavky.

Dále byly provedeny mikrobiologické rozbor, které měly za účel stanovit koncentrace životaschopných buněk před a po aplikaci přípravku LISTEX. Do zkumavky s 20 ml bujóny (BHI – bujón z mozkosrdcové infuze, Merck) bylo inokulováno 1 % *L. innocua* (200 μ l) a zároveň byl odebrán vzorek připravené suspenze k mikrobiologickému rozboru (1 ml vzorku stanovován přelivem). Poté bylo do zkumavky dále přidáno 10% přípravku LISTEX (2 ml) o koncentraci $2 \cdot 10^9$ PFU/ml. Po 30 minutách působení přípravku LISTEX byl odebrán vzorek (opět 1 ml přelivem) k mikrobiologickým rozborům. Rozbor probíhal plotnovými metodami a jako médium byl použit agar z mozkosrdcové infuze (Merck).

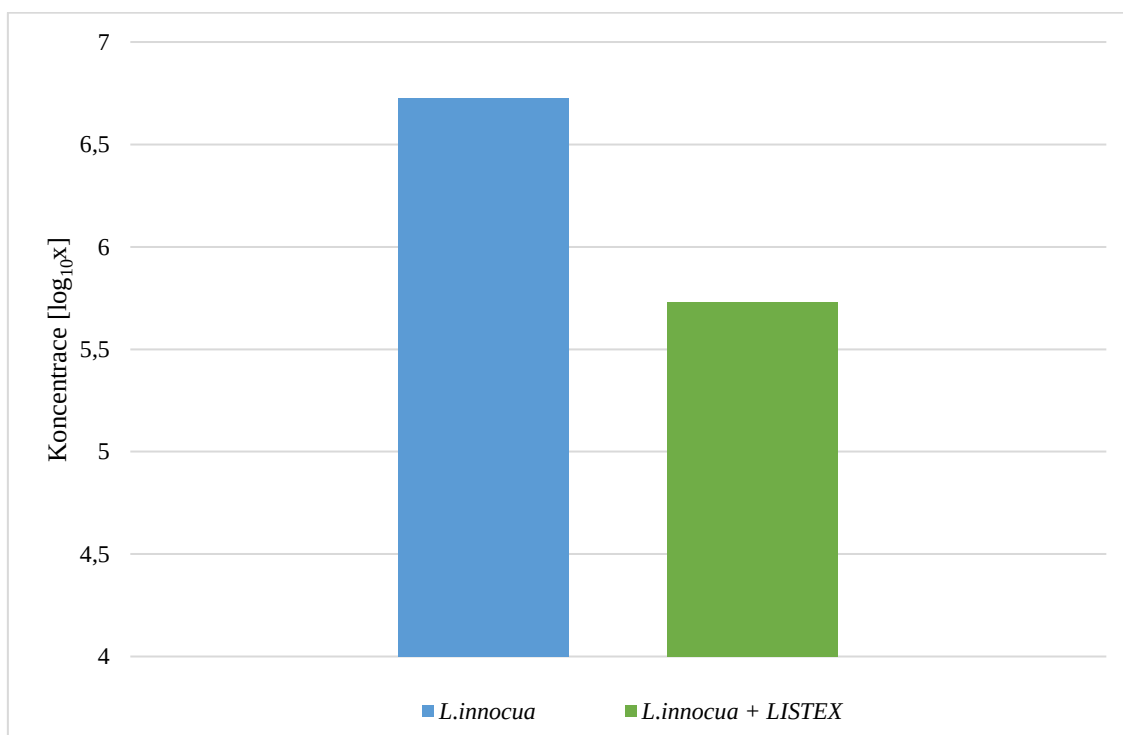
Výsledky a diskuze

Účinnost přípravku byla ověřena. Měření probíhalo za teploty 37 °C, což je nejvhodnější teplota pro kultivaci bakterií rodu *L. innocua*. Zároveň je to ale hraniční teplota pro

přípravek LISTEX. Dle specifikací výrobce jsou teploty nad 37 °C nevhodné pro aplikaci tohoto přípravku. I při takto nastavených podmínkách byl přípravek LISTEX schopen prodloužit lag fázi o téměř trojnásobek (**Obr. 3**) běžné doby lag fáze. Dále z provedených mikrobiologických rozborů (**Obr. 4**) je patrné, že použití přípravku LISTEX snížilo počet bakterií o 1 řád. Domníváme se, že v dalším měření, které bude probíhat při nižších teplotách, se bude účinnost tohoto přípravku zvyšovat.



Obrázek 3. Růstová křivka *L. innocua* při 37°C s a bez použití přípravku LISTEX



Obrázek 4. Účinnost přípravku LISTEX na *L. innocua* po aplikační době 30 minut

Zdroje:

- de Melo, Alessandra Gonçalves, Sébastien Levesque, and Sylvain Moineau. 2018. 'Phages as friends and enemies in food processing', *Current Opinion in Biotechnology*, 49: 185-90.
- Fister, Susanne, Patrick Mester, Anna Kristina Witte, Julia Sommer, Dagmar Schoder, and Peter Rossmanith. 2019. 'Part of the problem or the solution? Indiscriminate use of bacteriophages in the food industry can reduce their potential and impair growth-based detection methods', *Trends in Food Science & Technology*, 90: 170-74.
- Goldbourn, Amir. 2019. 'Structural characterization of bacteriophage viruses by NMR', *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 114-115: 192-210.
- Harada, Liliam K., Erica C. Silva, Welida F. Campos, Fernando S. Del Fiol, Marta Vila, Krystyna Dąbrowska, Victor N. Krylov, and Victor M. Balcão. 2018. 'Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art', *Microbiological Research*, 212-213: 38-58.
- SNUSTAD, D. Peter, Michael J. SIMMONS a Jiřina RELICHOVÁ. Genetika. Brno: Masarykova univerzita, 2009. ISBN 978-80-210-4852-2.

Hygienická úskalí současných potravinářských zařízení

Ivan Chadima

Regionální sekce EHEDG

Souhrn

Již přes 20 let musí mít potravinářské podniky zavedeny postupy založené na zásadách HACCP. Tyto postupy mimo jiné vyžadují vzít při výrobě potravin v úvahu všechna reálná nebezpečí a tyto efektivně ovládat. Mikrobiologická nebezpečí spojená s výrobním zařízením tvoří významnou skupinu příčin selhání hygieny při výrobě potravin. Čím složitější jsou strojní zařízení, tím větší je pravděpodobnost výskytu nebezpečných míst a mikrobiologických kontaminací ve výrobním zařízení. Tento příspěvek poukazuje na některá typická nedodržení zásad hygienické konstrukce již v návrhu a poté instalaci zařízení.

Strategie zmírňování potravinových podvodů

Food fraud mitigation strategy

Ing. Naděžda Kulišťáková Cahlíková, Ph.D.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Souhrn

Složitá povaha globalizovaných potravinových řetězců a ekonomická motivace poskytovat levnější potraviny přispěla celosvětově k výskytu potravinových podvodů. Podvodné praktiky v potravinářském odvětví mohou vést, kromě ekonomických ztrát, také k ohrožení bezpečnosti potravin. Všeobecně proto sílí tlaky na výrobce a distributory, aby do svých systémů bezpečnosti potravin implementovali postupy určené k řízení a minimalizaci rizika potravinových podvodů, které jsou nad rámec potravinového práva a vycházejí z požadavků mezinárodně uznávaných GFSI standardů. Tyto standardy vyžadují implementaci strategie zmírňování potravinových podvodů, která se zavádí v několika krocích. Jedná se o posouzení zranitelnosti potravinovými podvody, kdy se posuzuje riziko výskytu podvodné aktivity v dodavatelském řetězci a vytvoření plánu zmírňování potravinových podvodů, který stanovuje kontrolní opatření pro úspěšné zmírnění zjištěných rizik. Typy kontrolních opatření a míra jejich implementace v potravinářských provozech se liší podle povahy potravinových podvodů, zdrojů surovin, možného způsobu dohledu a metod detekce.

Summary

The complex nature of our globalized food supply chains and the economic motivation to provide cheaper food products have contributed to the prevalence of food fraud worldwide. In addition to economic losses, fraudulent practices in the food sector can also affect food safety. Therefore, in general, there is increasing the pressure on producers and distributors to implement in their food safety systems procedures intended to manage and minimize the risk of food fraud that goes beyond the food law and are based on the requirements of internationally recognized GFSI standards. These standards require the implementation of a food fraud mitigation strategy that is introduced in several steps. This is the vulnerability assessment of food fraud, assessing the risk of fraudulent activity in the supply chain and the development of a food fraud mitigation plan that sets out control measures to successfully mitigate identified risks. The types of control measures and the level of their implementation in the food plant vary according to the nature of the food fraud, the sources of raw materials, the possible ways of supervision and the detection methods.

Možnosti eliminace používání přídatných látek v potravinách

Possibilities to eliminate the use of food additives

Pivoňka Jan, Pohůnek Václav, Rudolf Ševčík

Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3,
166 28 Praha 6 – Dejvice

Souhrn

Spotřebitelé v Evropské unii se dnes mnohem více zajímají o informace týkající se výroby potravin a pokrmů než tomu bylo před 50 lety. Přes skutečnost, že provozovatelé potravinářských podniků neustále investují do bezpečnosti vyráběných produktů a metod jejich kontroly, se neustále objevují informace o nedůvěře spotřebitelů ve zdravotní nezávadnost průmyslově vyrobených potravin. Některé výrobní postupy a suroviny jsou vnímány přímo jako zdraví škodlivé, ačkoliv jejich používání podléhá neustálému přezkoumávání ze strany Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA). Jedním z nejvíce diskutovaných postupů je využívání přídatných látek, které jsou považovány za látky škodlivé lidskému zdraví. Na tuto skutečnost reaguje řada provozovatelů potravinářských podniků a snaží se o výrobu potravin, u nichž by byl použit omezený nebo lépe nulový počet přídatných látek. Cílem je produkce potravin bez nutnosti označení přídatných látek, označených jako „Clean Label“ (z angl. „čistá etiketa“). Je otázkou, zda při využití alternativních postupů je vždy postupováno správně v souladu s legislativními požadavky na výrobu a označování potravin.

Summary

Currently, consumers in the European Union are much more interested in receiving information about food production and food product than they did 50 years ago. In spite of the fact that food business operators are constantly investing in the safety of manufactured products and methods of their control, information about consumer distrust of the safety of industrially produced foods is constantly emerging. Some production processes and raw materials are perceived directly as harmful to health, although their use is subject to constant review by the European Food Safety Authority (EFSA). One of the most discussed procedures is the use of additives that are considered to be harmful to human health. A number of food business operators are responding to this and are trying to produce food that would use a limited or zero additives. The aim is to produce food products without the need to label additives and thus labeled as 'Clean Label'. It is questionable whether the use of alternative procedures always proceeds correctly in accordance with the legislative requirements for food production and labeling.

Klíčová slova: *přídatné látky, přírodní materiály, rostlinné extrakty.*

Úvod do problematiky

Potravinářský průmysl, stejně jako další průmyslová odvětví, potřebuje vyvíjet nové technologické postupy, nové technologie, nové nebo inovované finální produkty. Novinky ve zpracování potravin jsou ovlivňovány trendy ve spotřebě potravin, které jsou zejména ve vyspělých zemích ovlivňovány zájmem o zdraví životní styl a to jak z pohledu nutriční hodnoty potravin, tak z pohledu zájmu o bezpečné potraviny s minimálním zpracováním. Těmto trendům se podřizují i producenti potravin a o tyto potraviny mají zájem především obchodní řetězce. V ideálním případě by potraviny neměly obsahovat žádné přídatné látky a měly by být minimálně zpracovány. To však není, i přes dokonalé chladírenské řetězce, zejména díky průmyslové výrobě, poptávce po určitých druzích potravin, hygienickým předpisům a požadavkům na trvanlivost potravin úplně možné. Spotřebitelé tedy dávají přednost tradičním způsobům zpracování potravin bez použití přídatných látek, což může být, ale chybné vnímání zdravější a bezpečnější potraviny. K této skutečnosti přispívá mnoho faktorů, jsou to především anonymní studie nebo studie, kde nejsou zcela přesně vysvětleny důvody náhrady přídatných látek. Dalšími důvody, které doslova ničí veřejné mínění o přídatných látkách jsou alarmující titulky v médiích, skandály s potravinami, jako jsou například dioxinové nebo melaminové krize unáhlená rozhodnutí dozorových orgánů a informace na neověřené informace, které se šíří pomocí internetu a sociálních sítí (1, 2, 3, 4).

Vzhledem k tomu, že část skandálů je spojena s nadměrným přidáváním potravinářských přídatných látek nebo nelegálním způsobem používání přídatných látek za účelem zvýšení zisku nebo maskování vad potravin, si spotřebitelé obecně myslí, že každá přídatná látka přidaná do potravin je potenciálně škodlivá, a proto dává přednost potravinám s minimem anebo úplně bez přídatných látek. Z tohoto důvodu se hledají alternativní způsoby pro stabilizaci a konzervaci potravin (1, 3, 5).

Využití přírodních materiálů

Nejrozšířenější náhradou aditivních látek v potravinách je využití přírodních rostlinných materiálů. Přírodní rostlinné materiály jsou sami často využívány jako surovina pro výrobu přídatných látek, které prošly schvalovacím procesem a jsou jako přídatné látky používány v souladu s legislativou (2,3,4).

Druhou možností náhrady je využití samotných potravin s určitou technologickou funkcí. To že se přidává jako složka do potraviny jiná potravina s určitou technologickou funkcí, je celkem běžné záležitost. Citronová šťáva plní funkci antioxidantu a konzervantu v nápojích a ovocných pomazánkách. Pšeničná mouka zase plní funkci stabilizátoru textury v masných výrobcích. Plody moře, sójové omáčky, sýry a další potraviny jsou zdrojem zbytečně medializovaného ochucovadla potravin, glutamátu. Různé zdroje volného glutamátu ve vybraných potravinách jsou uvedeny v tabulce číslo 1., ten může vznikat během fermentace, zrání nebo tepelného opracování hydrolýzou bílkovin v různých potravinách (6,7).

Tabulka č. 1: Obsah volného glutamátu ve vybraných potravinách (6,7).

Potravina	Volná glutamát (mg/100g)	Potravina	Volná glutamát (mg/100 g)
Sójová omáčka	412 - 1264	Plody moře	19 - 140
Avokádo	18	Sýr	182 -1680
Houby	42 -71	Rybí omáčky	621 - 1383
Rajčata	246	Čerstvé maso	9 - 22
Zelí	50	Mléko	1 - 4

Dnes asi nejdiskutovanější a zároveň nejpoužívanější skupinou látek, které se využívají, jako náhrada přídatných látek jsou rostlinné extrakty. Při použití je nutné vzít v úvahu celou řadu faktorů. Jedná se o legislativní faktory s nimi související marketingové a dále výrobní a bezpečnostní aspekty. Legislativní faktory souvisí především s legálností použití vybraných přírodních materiálů a se správným označením použité suroviny, včetně deklarací, které si v rámci marketingové podpory vyžadují marketingový specialista a obchodníci. Způsob deklarace použití rostlinných extraktů je legislativně omezen. Především se to týká způsobu deklarace přítomnosti nebo nepřítomnosti přídatné látky ve finálním produktu. Jedná se o ty rostlinné extrakty, které se nepoužívají přímo ke spotřebě jako potravina a zároveň jsou schopny plnit technologickou funkci. V takovém to případě musí být postupováno v souladu s příslušnými právními předpisy (Nařízení komise (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách) a Nařízení komise (EU) č. 231/2012, kterým se stanoví specifikace pro potravinářské přídatné látky. Návodem pro správné označení může být stanovisko MZe (SVS a SZPI) ke způsobu dobrovolného označování „bez E“ nebo „bez přidaných E“ a vyjádření s podobným významem (8,9,10,11).

Výrobní a bezpečnostní aspekty poté souvisí s povahou přírodních rostlinných extraktů. Přírodní materiály nemusí mít vždy standartní složení, to může být závislé na mnoha faktorech, jako jsou například odrůda, pěstební podmínky nebo způsob skladování. V úvahu je nutno brát přirozenou variabilitu přírodních složek nebo materiály standardizovat, tak, aby zastoupení aktivních složek bylo vždy stejné. Jak tedy při rozhodnutí o použití extraktů postupovat. Nejprve je nutné se přesvědčit, zda se nejedná o novou potravinu, to znamená, zda se daná složka používala k výrobě potravin před 15. 5. 1997. Novými potravinami (dříve nazývanými potraviny nového typu) nebo novými složkami potravin nového typu (dále jen „NP“) se rozumí potraviny, u nichž nebyla doložena historie spotřeby před 15. 5. 1997, tedy datem, kdy vstoupilo v platnost nařízení EP a R (ES) č. 258/1997 ze dne 27. ledna 1997 o nových potravinách a nových složkách potravy. Pokud se nejedná o novou potravinu, je nutné se dále ujistit o tom, že extrakt byl vyroben povoleným způsobem a nebyl doplněn selektivním postupem cíleně izolujícím jednu látku nebo skupinu látek s určitou technologickou funkcí. Povoleným způsobem znamená, že extrakt je připraven povoleným extrakčním postupem popsaným v legislativě, to znamená, extrakcí jedním druhem rozpouštědla (vodou, lihem nebo organickými rozpouštědly) v rozsahu povoleném směrnicí 32/2009 o použití extrakčních rozpouštědel (8,11,12,13).

Použití rostlinných extraktů a správnost jejich značení určitě není jednoduchou záležitostí, tento fakt potvrzuje i stanovisko Stálého výboru Evropské komise pro rostliny, zvířata, potraviny a krmivo. Výbor se k uvedené problematice po několikáté vrátil a v roce 2018 a zopakoval své stanovisko z roku 2006 a 2010. Závěr uvedeného stanoviska spočívá v tom, že použití extraktů, jež jsou schopny plnit určitou technologickou funkci, se považuje za úmyslné použití jako potravinářské přídatné látky. Z toho důvodu by měly splňovat podmínky stanovené v právních předpisech o přídatných látkách (včetně požadavků na specifikaci) a musí být označeno v souladu s příslušnými ustanoveními pro označování přídatných látek (8, 14).

Závěr:

Kromě výhod se sebou použití přírodních preparátů přináší řadu úskalí. Nejčastěji řešenou otázkou je podezření, zda se jedná o nepovolené použití přídatných látek nebo záměrné nedeklarování jejich použití. Smyslem jejich využití by mělo být především ve snaze rozšířit spektrum přírodních látek vhodných k zajištění stability a bezpečnosti potravin. Mimo vývoj v oblasti použití rostlinných extraktů by se vědecké a odborné práce měly také věnovat demystifikaci potravinářských aditiv obecně, tak aby byly pro spotřebitele přijatelné a přístupovali k jejich využívání bez strachu a nedůvěry. Odborná veřejnost by měla jasně označit původce nepravdivých nebo neúplných informací, kteří využívají složitosti popsané problematiky a prezentují se například neověřenými logy kvality. V této souvislosti je třeba neustále zdůrazňovat, že všechna aditiva „E čísla“ jsou nebezpečná a že přírodní i syntetické aditivní látky jsou klasifikovány podle stejných předpisů a jejich použití je neustále přezkoumáváno. Mělo by se jednat o společné úsilí, které musí zdůrazňovat nejen vědecké organizace, řídicí a dozorové orgány, ale i potravinářský průmysl a obchodní organizace.

Literatura

1. Caroch, M., Morales, P., Ferreira, I. C. F. R. (2018): Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives, *Trends in Food Science & Technology*, 71, 107-120.
2. Cheung, T.T.L., Junghans, A.F., Dijksterhuis, G.B., Kroese, F., Johansson, P., Hall, L., De Ridder, D.T.D. (2016): Consumers' choice-blindness to ingredient information, *Appetite*, 106, 2-12.
3. Caroch, M., Morales, P., Ferreira, I. C. F. R. (2015): Natural Food Additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology* 45, 284 – 295.
4. Caroch, M., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2014): Adding molecules to Food, pros and cons: a review of synthetic and natural food additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 377 - 399.
5. Meneses, Y., Cannon, K. J., Flores, R. A. (2014): Keys to understanding and addressing consumer perceptions and concerns about processed foods. *Cereal Foods World*, 59(3), 141-146.

6. Jinap, S., Hajeb P. (2010): Glutamate. Its applications in food and contribution to health.. Appetite 55 1–10.
7. Henry-Unaeze, H.N. (2017): Update on food safety of monosodium L-glutamate (MSG). Pathophysiology 24, 243-249.
8. Stanovisko MZe (SVS a SZPI) ke způsobu dobrovolného označování „bez E“ nebo „bez přidaných E“a vyjádření s podobným významem ke dni 1. 4. 2020. Dostupné 5. 2. 2020 na: <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/publikace-a-dokumenty/stanovisko-mze-svs-a-szpi-ke-zpusobu.html>
9. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům.
10. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách.
11. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1331/2008, kterým se stanoví jednotné povolovací řízení pro potravinářské přídatné látky, potravinářské enzymy a látky určené k aromatizaci potravin.
12. NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 231/2012, kterým se stanoví specifikace pro potravinářské přídatné látky uvedené v přílohách II a III nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008.
13. SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY 2009/32/ES o sbližování právních předpisů členských států týkajících se extrakčních rozpouštědel používaných při výrobě potravin a složek potravin.
14. Stanovisko Stálého výboru Evropské komise pro rostliny, zvířata, potraviny a krmiva ze dne 17. září. 2018: Dostupné 5. 2. 2020 na: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/regcom_toxic_20180917_sum.pdf.

Využití sorpčních izoterm k hodnocení kvality trvanlivých masných výrobků

Use of sorption isotherms to assess the quality of durable meat products

Josef Bauer¹, Filip Beňo¹, Václav Pohůnek¹, Romana Korandová², Rudolf Ševčík¹
Aleš Rajchl¹

¹Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

²Katedra kvality a bezpečnosti potravin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze

Souhrn

Sorpční izoterma definuje vztah mezi aktivitou vody a obsahem vody při dané teplotě. Tento vztah je pro každý produkt z důvodu různých interakcí mezi vodou a pevnými složkami při různém obsahu vody zcela jedinečný a složitý. V této práci byl pro měření sorpčních izoterm použit přístroj AquaLab Vapor Sorption Analyzer (VSA). VSA je jediný automatický generátor izoterm, který dokáže vytvářet izotermny pomocí dynamických – Dynamic Dew Point Isotherm (DDI) i statických metod – Dynamic Vapor Sorption (DVS). Z naměřených hodnot byly sestrojeny sorpční izotermny a porovnány s modely Guggenheim-Andersen-de Boer GAB a Double Log Polynomial (DLP).

Summary

The sorption isotherm defines the relationship between water activity and water content at a constant temperature. This relationship is unique and complex for each product due to the different interactions between water and solids at different water contents. In this work, the AquaLab Vapor Sorption Analyzer (VSA) was used to measure sorption isotherms. VSA is the only automatic isotherm generator that can generate isotherms using both methods – Dynamic Dew Point Isotherm (DDI) and Dynamic Vapor Sorption (DVS). Sorption isotherms were constructed from the measured values and compared with Guggenheim-Andersen-de Boer GAB and Double Log Polynomial (DLP) models.

Klíčová slova: *sorpční izoterma, aktivita vody, trvanlivý masný výrobek, DDI*

Úvod do problematiky

Voda je důležitou součástí potravin, která se podílí na jejich mnoha vlastnostech, jako jsou například chemická, biochemická, fyzikální stabilita, dále výskyt fázových přechodů, smyslové vnímání potravin a na mikrobiální bezpečnosti potravin [1, 2]. Aktivita vody (a_w) je definována jako poměr parciálního tlaku vodní páry nad potravinou k parciálnímu tlaku vodní páry čisté vody za konstantní teploty a používá

se k vyjádření dostupnosti vody v potravinách a její využitelnosti pro mikrobiální, enzymové a chemické změny [3, 4]. Aktivita vody fermentovaných masných výrobků, jako jsou salámy, klobásy, fermentované šunky a sušených masných výrobků je nižší než u čerstvého masa a znalost tohoto parametru je velmi důležitým faktorem, který zaručuje požadovanou stabilitu vůči mikrobiálnímu kažení produktu a zajištění bezpečnosti produktu po dobu očekávané trvanlivosti výrobku. Proto je nutná znalost sorpčních izoterem a jejich proměřování za účelem modelování procesů sušení, zrání a fermentace ale také skladování a distribuce trvanlivých masných výrobků [5-7].

Sorpční izoterma definuje vztah mezi aktivitou vody a obsahem vody při dané teplotě. Tento vztah je pro každý produkt z důvodu různých interakcí mezi vodou a pevnými složkami při různém obsahu vody zcela jedinečný a složitý. Tvorba sorpčních izoterem má uplatnění nejen v potravinářství, ale také například ve farmacii či v průmyslu jako je například stavebnictví. Sorpční izotermy mají ve většině případů u potravin sigmoidální tvar (typ II), i když potraviny, které obsahují velké množství cukru, mají tvar křivky izotermy typu j (typ III) [3, 8].

Automatické generátory sorpčních izoterem dokáží vytvářet izotermy pomocí dynamických – Dynamic Dew Point Isotherm (DDI) a/nebo statických metod – Dynamic Vapor Sorption (DVS) [9]. Metoda DDI je tedy dynamickou metodou, která je založena na měření sorpční izotermy pomocí gravimetrické analýzy a měření aktivity vody. Principem je zvlhčování vzorku, pokud se jedná o adsorpci a sušení vzorku, kdy vlhkost je odváděna k absorberu, a zde hovoříme o desorpci. Obsah vody se určuje vážením vzorku s vysokou přesností měření a pro zjištění aktivity vody je měřen rosný bod pomocí chlazeného zrcátka. Výhody metody jsou především v její rychlosti měření, prevenci růstu plísní při vysokých hodnotách aktivity vody, velké množství datových bodů, a kromě toho je nutné pouze sušidlo a voda ke změření sorpční izotermy [9, 10]. DVS je statickou metodou a relativně novou technikou navrženou ke měření změny hmotnosti způsobené adsorpcí nebo desorpcí vodní páry při jakékoli požadované relativní vlhkosti v krátkém časovém úseku. Vzorek je udržován při každé vlhkosti po předem stanovený časový interval, nebo dokud není dosaženo rovnovážné změny hmotnosti, přičemž cílem je dosáhnout rovnováhy mezi aktivitou vody ve vzorku a regulovanou vlhkostí [11].

I když existuje 270 izotermických modelů, nejčastěji používanými modely jsou pouze dva modely a to Guggenheim-Andersen-de Boer (GAB) a Brunauer-Emmett-Teller (BET) [12].

Model GAB je široce přijímán jako nejužitečnější pro charakterizaci sorpčních izoterem v celém rozsahu aktivity vody. Rovnice modelu GAB má tento tvar [13]:

$$m = \frac{m_o k_b c a_w}{(1 - k_b a_w)(1 - k_b a_w + k_b c a_w)}$$

kde m je vlhkost (g/100 g sušiny), a_w je aktivita vody, m_o je vlhkost monomolekulární vrstvy (g/100 g sušiny), k_b a c jsou konstanty

Rovnice modelu BET má tento tvar [12]:

$$m = \frac{a_w m_o c}{(1 - a_w)[1 + a_w(c - 1)]}$$

kde m je vlhkost (g/100 g sušiny), a_w je aktivita vody, m_o je vlhkost monomolekulární vrstvy (g/100 g sušiny), c se vypočítá podle vzorce:

$$c = \exp \frac{Q_s}{RT}$$

kde R je plynová konstanta (8,314 J/mol K), T je teplota (K) a Q je energie (J/mol)

Nový empirický model DLP, který se ukázal být ještě lepší, než GAB při charakterizaci komplexních izoterm má tento tvar [14]:

$$m = b_3 X^3 + b_2 X^2 + b_1 X + b_0$$

kde m je vlhkost (g/100 g sušiny), $b_0 - b_3$ jsou empirické konstanty a $X = \ln [-\ln(a_w)]$

Materiál a metodika

Materiál

Pro analytické stanovení byly dodány vzorky Brdské klobásy a salámu Třemšín od společnosti Uzeniny Příbram, a.s. a to v sadě sedmi vzorků (v různém stadiu výroby) a se třemi různými startovacími kulturami (vzorek a, b, c), kde první vzorky představovaly čerstvé připravené dílo před naražením a další vzorky byly přivezeny vždy následující tři dny od začátku procesu fermentace, sušení a zrání fermentovaných výrobků.

Metodika

Stanovení pH a aktivity vody

Stanovení pH a aktivity vody bylo měřeno u všech vzorků Brdských klobás a salámů Třemšín, pH bylo měřeno pomocí pH metru KNICK Portavo 904 pH (Německo), vpichová sonda SE 104 N a teplota byla měřena teplotním čidlem (Pt 1000 ZU 0156), které je součástí pH metru.

Aktivita vody byla měřena přístrojem a_w metr Aqualab 4 TEV (USA), který je založen na principu rosného bodu. Postup přípravy vzorku spočíval v umístění homogenního vzorku do vyjímatelné plastové nádoby tak, aby dno bylo zcela zakryté vzorkem a vzorek nepřesahoval nádobku více než z poloviny. Po ustálení teploty byly odečteny naměřené hodnoty aktivity vody.

Stanovení sušiny a tuku

Stanovení sušiny bylo provedeno gravimetricky u všech vzorků. Sušení probíhalo při teplotě 105 °C v sušárně HS 32 A (ČR) do konstantního hmotnostního úbytku (zpravidla 2 hodiny).

Stanovení tuku bylo provedeno metodou dle Soxhleta pomocí extrakční jednotky systému Soxtec 2043 (Foss, Švédsko) s programem sestávající se ze tří fází.

Měření sorpčních izoterem

V této práci byl pro měření sorpčních izoterem použit přístroj AquaLab Vapor Sorption Analyzer (VSA), (Decagon Devices, USA). Měření probíhalo dynamickou metodou DDI (Dynamic Dew Point Isotherm), která je vysvětlena v literární části, v rozmezí aktivit vody od 0,7 – 0,95 při teplotě 25 °C. Ke měření byly vybrány vzorky Brdské klobásky (vzorek BRD 7a) a salámu Třemšín (vzorek TŘ 7a) na konci procesu fermentace.

Výsledky a diskuze

Stanovení vody, tuku, pH a a_w bylo provedeno u všech vzorků Brdské klobásky (vzorek BRD) a salámu Třemšín (vzorek TŘ) s různými startovacími kulturami (vzorek a, b, c). Všechny vzorky byly měřeny v paralelním stanovení. V tabulce číslo 1 jsou uvedeny výsledky pro vzorek BRD a TŘ na začátku procesu fermentace (dílo). V tabulce číslo 2 jsou uvedeny výsledky vzorků BRD a TŘ po šesti dnech procesu fermentace, kde došlo k výraznému poklesu pH a tato hodnota již nadále byla konstantní. V tabulce číslo 3 jsou uvedeny výsledky vzorků BRD a TŘ na konci procesu fermentace, kde aktivity vody jsou pod hodnotou $a_w < 0,93$ a tudíž splňují legislativní podmínku pro trvanlivé fermentované masné výrobky. Obsah vody klesal a zároveň obsah tuku rostl s přibývajícím dnem v průběhu fermentace a zrání masných výrobků.

Tabulka 1: vzorek BRD a TŘ na začátku fermentace

Vzorek 1	pH	a_w	Obsah vody (g/100 g vzorku)	Obsah tuku (g/100 g vzorku)
Vzorek TŘ				
Vzorek a	5,77 ± 0,03	0,976 ± 0,002	60,80 ± 0,65	17,02 ± 0,89
Vzorek b	5,76 ± 0,01	0,972 ± 0,001	59,49 ± 0,15	17,50 ± 0,30
Vzorek c	5,70 ± 0,01	0,978 ± 0,002	57,53 ± 0,72	20,55 ± 0,74
Vzorek BRD				
Vzorek a	5,83 ± 0,02	0,974 ± 0,003	47,30 ± 0,82	31,04 ± 1,47
Vzorek b	5,80 ± 0,04	0,976 ± 0,001	50,90 ± 0,75	26,91 ± 0,13
Vzorek c	5,81 ± 0,01	0,972 ± 0,002	49,08 ± 1,41	29,26 ± 1,60

Tabulka 2: vzorek BRD a TŘ po šesti dnech fermentace

Vzorek 3	pH	a_w	Obsah vody (g/100 g vzorku)	Obsah tuku (g/100 g vzorku)
Vzorek TŘ				
Vzorek a	$4,72 \pm 0,04$	$0,946 \pm 0,001$	$49,26 \pm 0,09$	$24,66 \pm 0,10$
Vzorek b	$4,74 \pm 0,02$	$0,948 \pm 0,003$	$49,63 \pm 0,57$	$23,97 \pm 0,96$
Vzorek c	$4,72 \pm 0,02$	$0,954 \pm 0,003$	$49,84 \pm 0,73$	$23,93 \pm 0,14$
Vzorek BRD				
Vzorek a	$4,78 \pm 0,01$	$0,935 \pm 0,002$	$37,13 \pm 0,94$	$37,45 \pm 1,24$
Vzorek b	$4,77 \pm 0,03$	$0,930 \pm 0,001$	$37,55 \pm 0,08$	$35,94 \pm 0,79$
Vzorek c	$4,61 \pm 0,01$	$0,937 \pm 0,004$	$37,44 \pm 0,43$	$37,68 \pm 0,34$

Tabulka 3: vzorek BRD a TŘ po na konci fermentace

Vzorek 7	pH	a_w	Obsah vody (g/100 g vzorku)	Obsah tuku (g/100 g vzorku)
Vzorek TŘ				
Vzorek a	$4,88 \pm 0,02$	$0,903 \pm 0,001$	$36,08 \pm 0,02$	$30,31 \pm 0,31$
Vzorek b	$4,88 \pm 0,03$	$0,905 \pm 0,001$	$37,99 \pm 0,08$	$27,63 \pm 0,34$
Vzorek c	$4,82 \pm 0,02$	$0,896 \pm 0,003$	$34,99 \pm 0,38$	$28,35 \pm 1,01$
Vzorek BRD				
Vzorek a	$4,69 \pm 0,03$	$0,902 \pm 0,001$	$31,14 \pm 0,07$	$42,13 \pm 0,59$
Vzorek b	$4,74 \pm 0,02$	$0,899 \pm 0,004$	$31,45 \pm 0,71$	$40,94 \pm 0,29$
Vzorek c	$4,67 \pm 0,05$	$0,913 \pm 0,002$	$32,62 \pm 0,21$	$40,73 \pm 0,13$

Sorpční izotermy

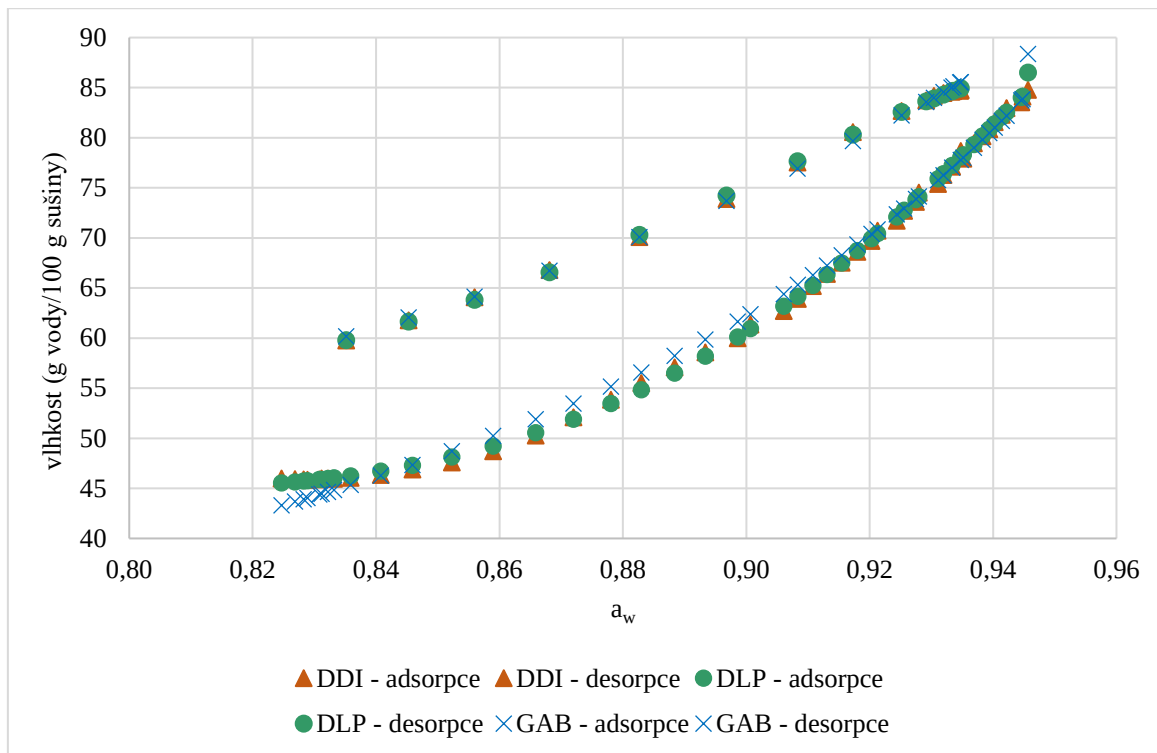
U vzorku číslo 7a Brdské klobásy byla proměřena sorpční izoterma metodou DDI v rozmezí aktivity vody 0,8 – 0,95 při teplotě 25 °C. Naměřené empirické konstanty pro model DLP a model GAB, koeficient determinace a průměrná hodnota odchylky predikce jsou uvedeny v tabulkách číslo 4 a 5. V grafu číslo 1 je znázorněn průběh adsorpce a desorpce naměřenou metodou DDI a porovnán s modelem DLP a modelem GAB.

Tabulka 4: koeficienty DLP modelu u vzorku Brdské klobásy

Model DLP	koeficienty					Prům. hodnota odchylky predikce
	b_0	b_1	b_2	b_3	Koeficient determinace (R^2)	
Adsorpce	209,577	248,68	116,238	15,614	0,999	0,322
Desorpce	111,684	122,555	74,9	12,286	1	0,195

Tabulka 5: koeficienty GAB modelu u vzorku Brdské klobásky

Model GAB	koeficienty				
	c_1	k	m_0	Koeficient determinace (R^2)	Prům. hodnota odchylky predikce
Adsorpce	12021,506	0,932	10,017	0,994	1,115
Desorpce	-8826,84	0,854	17,256	0,998	0,475



Graf 1: průběh sorpční izotermy u vzorku Brdské klobásky

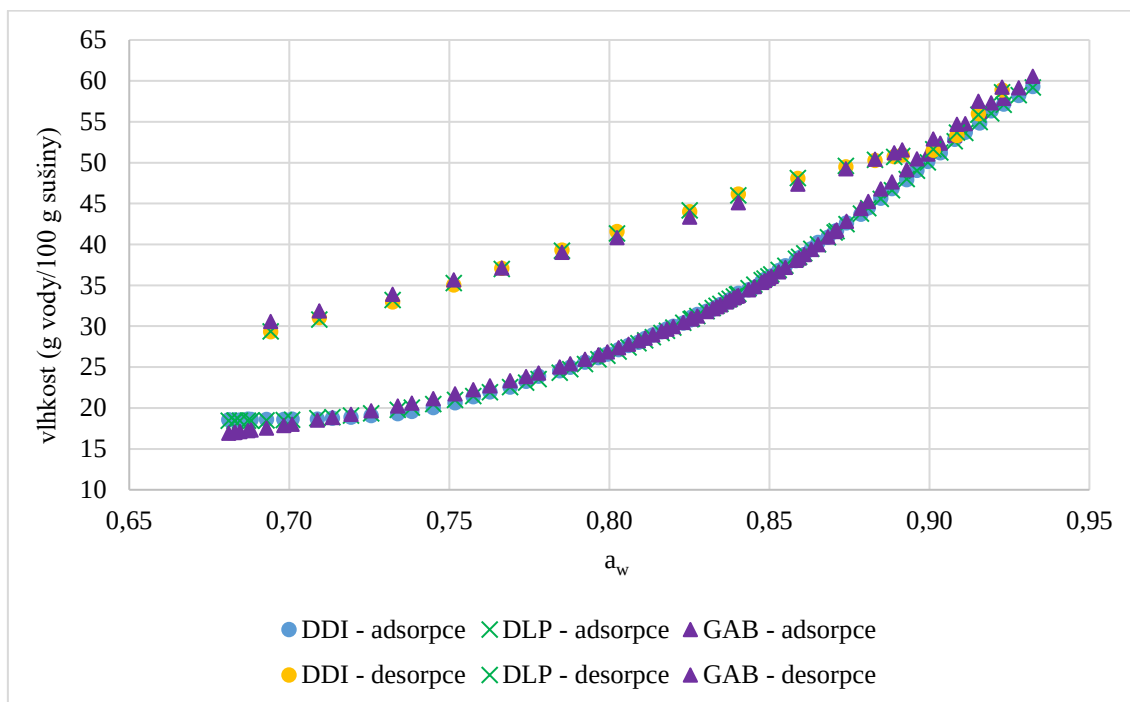
U vzorku číslo 7a salámu Třemšín byly proměřena sorpční izoterma metodou DDI v rozmezí aktivity vody 0,7 – 0,95 při teplotě 25 °C. Naměřené empirické konstanty pro model DLP, model GAB a koeficient determinace a průměrná hodnota odchylky predikce jsou uvedeny v tabulkách číslo 6 a 7. V grafu číslo 2 je znázorněn průběh adsorpce a desorpce naměřenou metodou DDI a dále jsou v grafu vyneseny hodnoty vlhkostí a aktivity vody z modelů DLP a GAB.

Tabulka 6: koeficienty DLP modelu u vzorku salámu Třemšín

Model DLP	koeficienty					Prům. hodnota odchylky predikce
	b_0	b_1	b_2	b_3	Koeficient determinace (R^2)	
Adsorpce	63,305	104,151	71,785	12,484	1	0,173
Desorpce	14,459	0,935	22,005	6,381	1	0,158

Tabulka 7: koeficienty GAB modelu u vzorku salámu Třemšín

Model GAB	koeficienty				
	c_1	k	m_0	Koeficient determinace (R^2)	Prům. hodnota odchylky predikce
Adsorpce	10962,593	1	5,389	0,996	0,503
Desorpce	0,126	0,475	350,814	0,990	0,722



Graf 2: průběh sorpční izotermy u vzorku salámu Třemšín

Závěr

V experimentální části práce byly sestaveny sorpční izotermy metodou DDI u vzorků Brdské klobásy a salámu Třemšín v rozmezí hodnot aktivity vody 0,7 – 0,95 a změřené hodnoty byly porovnány s modely GAB a DLP. Naměřené Empirické konstanty modelů jsou uvedeny v části výsledků. Koeficient determinace u modelu DLP u vzorku Brdské klobásy i salámu Třemšín vyšel 1, zatímco u modelu GAB byly hodnoty menší než u modelu DLP. Průměrná hodnota odchylky predikce u fermentovaných masných výrobků u modelu DLP nepřesahovala hodnotu 0,4, zatímco u modelu GAB dosahovala průměrná hodnota odchylky predikce i hodnoty vyšší než 1. Model DLP se jeví jako lepší variantou pro predikci sorpčních izoterem.

Naměřená data sorpčních izoterem mohou být použity k predikci sorpčních izoterem u trvanlivých masných výrobků a mohou sloužit k okamžitému určení aktivity vody nebo obsahu vody v provozu, a to na základě zjištění pouze jednoho z těchto parametrů.

Literatura

- [1] S. J. Schmidt, J. W. Lee.: “Comparison between water vapor sorption isotherms obtained using the new dynamic dewpoint isotherm method and those obtained using the standard saturated salt slurry method,” *Int. J. Food Prop.*, vol. 15, no. 2, pp. 236–248, 2012.
- [2] G. Clemente, J. Bon, J. Benedito, A. Mulet.: “Desorption isotherms and isosteric heat of desorption of previously frozen raw pork meat,” *Meat Sci.*, vol. 82, no. 4, pp. 413–418, 2009.
- [3] A. H. Al-Muhtaseb, W. A. M. McMinn, T. R. A. Magee.: “Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review,” *Food Bioprod. Process. Trans. Inst. Chem. Eng. Part C*, vol. 80, no. 2, pp. 118–128, 2002.
- [4] I. Lind, C. Rask.: “Sorption isotherms of mixed minced meat, dough, and bread crust,” *J. Food Eng.*, vol. 14, no. 4, pp. 303–315, 1991.
- [5] J. Comaposada, J. Arnau, P. Gou.: “Sorption isotherms of salted minced pork and of lean surface of dry-cured hams at the end of the resting period using KCl as substitute for NaCl,” *Meat Sci.*, vol. 77, no. 4, pp. 643–648, 2007.
- [6] N. Aktaş, A. Gürses.: “Moisture adsorption properties and adsorption isosteric heat of dehydrated slices of Pastirma (Turkish dry meat product),” *Meat Sci.*, vol. 71, no. 3, pp. 571–576, 2005.
- [7] I. Muñoz, J. Arnau, A. Costa-Corredor, P. Gou.: “Desorption isotherms of salted minced pork using K-lactate as a substitute for NaCl,” *Meat Sci.*, vol. 83, no. 4, pp. 642–646, 2009.
- [8] F. Kaymak-Ertekin, A. Gedik.: “Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 37, no. 4, pp. 429–438, 2004.
- [9] B. P. Carter, A. J. Fontana.: “Dynamic Dewpoint Isotherm verses Other Moisture Sorption Isotherm Methods,” no. Ddi, 2008.
- [10] S. Romani, P. Rocculi, S. Tappi, M. Dalla Rosa.: “Moisture adsorption behaviour of biscuit during storage investigated by using a new Dynamic Dewpoint method,” *Food Chem.*, vol. 195, pp. 97–103, 2016.
- [11] D. Argyropoulos, R. Alex, J. Müller.: “Equilibrium moisture contents of a medicinal herb (*Melissa officinalis*) and a medicinal mushroom (*Lentinula edodes*) determined by dynamic vapour sorption,” *Procedia Food Sci.*, vol. 1, pp. 165–172, 2011.
- [12] B. Noutegomo, B. Ebanda, Atangana Ateba.: “Modelling moisture sorption isotherms of *Rhectophyllum camerunense* vegetable fiber,” *Eur. J. Pure Appl. Chem.*, vol. 4, no. February 2019, pp. 33–39, 2017.
- [13] K. Kachrimanis, M. F. Noisternig, U. J. Griesser, S. Malamataris.: “Dynamic moisture sorption and desorption of standard and silicified microcrystalline cellulose,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 64, no. 3, pp. 307–315, 2006.

- [14] J. Lin, B. Nurtama.: “Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Taro Flour,” *World J. Dairy Food Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 1–06, 2010.

Kontaktní adresa: josef.bauer@vscht.cz

ANALÝZA ZÁSTÚPENIA ŽIVOČÍŠNYCH DRUHOV V ZELENINOVO-MÄSOVÝCH PRÍKRMOCH URČENÝCH PRE DETI

ANALYSIS OF COMPOSITION OF ANIMAL SPECIES IN VEGETABLES AND MEAT FOODS INTENDED FOR CHILDREN

**Lucia Benešová¹, Jozef Golian¹, Ľubomír Belej¹, Peter Zajác¹, Jozef Čapla¹,
Patrícia Martišová², Tomáš Vlčko¹**

**¹Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76
Nitra**

**²Katedra technológie a kvality rastlinných produktov, FBP SPU v Nitre, Tr. A.
Hlinku 2, 949 76 Nitra**

SÚHRN

Obdobie identifikovaných prípadov falšovania potravín a podvodov s mäsom stále pretrváva a je potrebná intenzívna kontrola a šetrenie pomocou presných analytických metód, ktoré majú kľúčový význam pre zachovanie dôvery spotrebiteľov a zabezpečenie dodržiavania miestnych právnych predpisov a označovania. Referenčným prístupom na identifikáciu živočíšnych druhov v potravinách je metóda PCR ale použitie technológie microarray umožňuje identifikáciu širšej škály živočíšnych druhov a väčšie pohodlie užívateľa, najmä rýchlosť získania výsledku. Umožňuje identifikovať 24 druhov zvierat naraz v jednej analýze na 8 vzorkách. V našej štúdií sme verifikovali druhové zastúpenie mäsa v zeleninovo-mäsovéch príkrmoch zakúpených v obchodných sieťach v Slovenskej republike. Cieľená skupina konzumentov uvedených mäsovéch výrobkov boli deti. Na základe nami získaných výsledkov zo sledovaného súboru vzoriek (10) sme zachytili 5 vzoriek, ktorých zloženie nebolo v súlade s označením na etikete výrobku. Päť výrobkov bolo z hľadiska označenia a identifikovaných živočíšnych druhov v priamom súlade. Detekcia bola vykonaná s využitím LCD Array Kit Meat 5.0 od spoločnosti Chipron. Zo získaných výsledkov môžeme konštatovať, že je potrebné klásť dôraz na intenzívnu kontrolu a správu technologických krokov vo výrobe pri výrobe mäsovéch výrobkov.

Kľúčové slová: falšovanie, živočíšne druhy, detské príkrmy, Microarray

ABSTRACT

The period of identified cases of adulteration of food and meat fraud is still ongoing and intensive control and investigation is needed, using precise analytical methods, which are key to maintaining consumer confidence and ensuring compliance with local legislation and labelling. The reference approach for the identification of animal species in food is

the PCR method, but the use of microarray technology allows the identification of a wider range of animal species and greater user comfort, particularly the speed of obtaining the result. It allows to identify 24 animal species at a time in one analysis on 8 samples. In our study, we verified the species representation of meat in vegetable-meat foods bought in commercial networks in the Slovak Republic. The targeted group of consumers of these meat products were children. Based on the results obtained from the monitored sample set (10), we collected 5 samples whose composition did not comply with the labelling on the product label. Five products were in direct accordance with the labelling and the animal species identified. Detection was performed using the Array Kit Meat 5.0 LCD from Chipron. From the obtained results we can conclude that it is necessary to place emphasis on intensive control and management of technological steps in production in the production of meat products.

Keywords: *adulteration, animal species, foods intended for children, Microarray*

ÚVOD

Identifikácia druhu, pôvodu mäsa a mäsových výrobkov je dôležitou otázkou pre prevenciu a odhaľovanie podvodov, ktoré by mohli mať ekonomické, etické a zdravotné dôsledky **(Bertolini a kol., 2015)**. V prípade mäsa a mäsových výrobkov sa pri autentifikácii venuje pozornosť najmä zisteniu, či neboli vstupné suroviny vyššej kvality nahradené úplne alebo čiastočne surovinami menej hodnotnými, alebo či za účelom vyrobiť viac sa nepoužili prísady na zvýšenie hmotnosti, napr. voda, tuk, náhrady tukov (škroby, želatína, vláknina a i.), proteíny z iných zdrojov, napr. zo sóje a pod **(Suhaj a Kováč, 2000)**. Detekcia falšovania je náročným odvetvím v potravinárstve. Aktívny vývoj v oblasti prídavných látok, rovnako tak nové potraviny, ktoré podľahli výrazným zmenám potravinovej matrice zvyšujú nároky na presnosť a spoľahlivosť analytických metód založených na identifikácii senzorických, anatomických, morfológických a histologických rozdielov pri detekcii falšovania **(Yosef a kol., 2014)**. DNA mikročip je definovaný ako metóda pozostávajúca z miniatúrnych testovacích miest (tiež nazývaných mikročipy) umiestnených na pevnom substráte (ako je kremík, sodíkové sklo, tavený kremeň a plast), čo umožňuje vykonať viacero biochemických analýz súčasne **(Alikord a kol., 2018)**. Analýza pomocou DNA mikročipu umožňuje súčasné spracovanie viacerých mäsových výrobkov, zatiaľ čo súčasne generuje výsledky pre detekciu všetkých druhov zvierat prítomných v mäsových výrobkoch **(Azuka a kol., 2011)**. Použitie DNA mikročipu je alternatívnym genetickým prístupom na súčasnú detekciu rôznych rastlinných a živočíšnych druhov ako aj baktérií prítomných v skúmanej vzorke **(Kemp a kol., 2005; Azuka a kol., 2011)**. Tieto testy sú tiež dostupné ako komerčné testovacie súpravy, sú vhodné pre rutinnú analýzu vzhľadom na ich jednoduché použitie, rýchlosť a relatívne nízke náklady, ale obmedzené použitie na vysoko spracované potraviny **(Montowska a kol., 2014)**.

MATERIÁL METÓDY

V našej štúdii sme analyzovali druhové zastúpenie mäsa v zeleninovo-mäsových príkrmoch určených pre deti. Analyzované boli výrobky od rôznych výrobcov. Vzorky

boli zakúpené v rôznych obchodných sieťach. Analyzovaných bolo 10 vzoriek (1 – Zelenina a ryža s kuracím mäsom, 2 – Hovädzie na zelenine, 3 – Zemiaková kaša s kukuricou a morčacím mäsom, 4 – Hovädzie mäso s repkovým olejom, 5 – Zelenina s morčacím mäsom a zeleninou, 6 – Zelenina s kuracím mäsom, 7 – Zemiaky s králičím mäsom a feniklom, 8 – Zelenina s morčacím mäsom, 9 – Jahňacie soté s mrkvou a zemiakovou kašou, 10 – Mrkva s teľacím mäsom a zemiakmi). Identifikované živočíšne druhy sme porovnali so zložením produktu uvedeným výrobcom. V prvom kroku analýzy sme použili Maxwell 16 tissue DNA purification kit (Promega, Wisconsin, USA) komerčný kit na izoláciu DNA z potravín, aby sme dosiahli optimálnu čistotu DNA získanej zo zakúpených výrobkov. Na identifikáciu živočíšnych druhov sme použili Chipron LCD Array Kit Meat 5.0 (Chipron, Berlín, Nemecko). Z vyizolovanej DNA sme s využitím komponentov vytvorili PCR produkt, ktorý bol verifikovaný pomocou gélovej elektroforézy a následne sme v analýze pokračovali podľa protokolu vypracovaného výrobcom. Na vyhodnotenie sme využili prístrojové vybavenie, skener a softvér navrhnutý a odporúčaný výrobcom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analyzovaný súbor vzoriek pozostávajúci zo zeleninovo-mäsových príkrmov zahŕňal vzorky s deklarovaným jedným živočíšnym druhom v rámci označenia na etikete výrobku. Cieleňá skupina konzumentov uvedených mäsových výrobkov boli deti. Na základe nami získaných výsledkov zo sledovaného súboru vzoriek (10) sme zachytili 5 vzoriek, ktorých zloženie nebolo v súlade s označením na etikete výrobku (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 Vyhodnotenie autentifikácie druhového zastúpenia mäsa v zeleninovo-mäsových príkrmoch.

Identifikované živočíšne druhy v zeleninovo-mäsových príkrmoch												
Vzorky	Prítomná DNA											
	Hovädzia		Bravčová		Kuracia		Morčacia		Králičia		Jahňacia	
	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P
1					+	+						
2	+	-										
3							+	+				
4	+	+										
5	-	-/+	-/+				+	+				
6					+	-						
7									+	+		
8							+	+				
9	-	-/+	-	-/+							+	+
10	+	-										

Poznámka: D – deklarované; P – prítomné; + deklarované/prítomné; - nedeklarované/neprítomné; +/-deklarované, neprítomné; -/+ nedeklarované, prítomné.

V troch prípadoch bola zaznamenaná absencia deklarovaného druhu mäsa vo zvyšných prípadoch išlo o kontamináciu mimo deklarovaného zloženia. Päť výrobkov bolo z hľadiska označenia a identifikovaných živočíšnych druhov v priamom súlade. Naše výsledky sa zhodujú so štúdiami vyhotovenými v zahraničí. Malé množstvá DNA z bravčového mäsa v komerčných potravinových výrobkoch sú pravdepodobne výsledkom krížovej kontaminácie výrobnéj linky a nie z úmyselného falšovania potravín z bravčového mäsa (**Al-Kahtani a kol., 2017**). **Ulca a kol. (2013)** zistili v prieskume 42 vzoriek tureckých mäsových výrobkov štyri vzorky pozitívne na DNA ošípaných. **Ali a kol. (2014)** identifikovali kuracie nugety obsahujúce bravčové mäso. **Demirhan a kol. (2012)** použili PCR v reálnom čase a prasa-špecifické primery na halal autentifikáciu želatíny a zistili, že minimálna úroveň falšovania, ktorú zistili, bola 1,0 % hm. v marshmallows a žuvačkách. **Ran a kol. (2016)** našli prasačiu DNA v 15 komerčných vzorkách (mleté mäso, braciola, klobása, mäsové guľky) z celkom 42 vzoriek. **Sahilah a kol. (2012)** zistili, že 42 zo 113 farmaceutických kapsúl, ktoré testovali, obsahovalo prasačiu DNA. Ďalšia štúdia uviedla, že u 65 mletých vzoriek mäsa, 35 mäsových guľčiek, 50 fermentovaných klobás, 125 fermentovaných klobás z bravčového mäsa bola zistená miera falšovania 19,2 % (79 vzoriek) (**Günşen a kol. 2006**). V štúdií

vypracovanej v Turecku bolo analyzovaných (73) vzoriek mäsa a mäsových výrobkov predávaných v obchodoch, trhoch a verejných bazároch nachádzajúcich sa v rôznych mestských častiach v Istanbul. Štúdia poukázala na viacero nezhôd s označením na etikete výrobku (**Ozpinar a kol., 2013**).

ZÁVER

V analyzovanom súbore vzoriek sme zachytili 5 vzoriek, ktoré neboli v súlade s označením na etikete výrobku. Vo vzorkách bola zaznamenaná aj viacnásobná kontaminácia. Získané výsledky sú podnetom pre ďalšie skúmanie, analýzy a skúmanie možného vzniku kontaminácie vo výrobe. Zo získaných výsledkov môžeme konštatovať, že je potrebné klásť dôraz na intenzívnu kontrolu a správu technologických krokov vo výrobe pri výrobe mäsových výrobkov.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508. Práca bola podporená projektom VEGA 1/0276/18.

LITERATÚRA

- Ali, M. E., Razzak, M. A., Abd Hamid, S. B. 2014. Multiplex PCR in species authentication: probability and prospectsea review. *Food Analytical Methods*, vol. 7, no. 10, p. 1933-1949. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9844-4>
- Alikord, M., Hassan, M., Keramat, J., Kadivar, M., Aziz H. R. 2018. Species identification and animal authentication in meat products: a review. *Food Measure*, vol. 12, no. 1, p. 145-155. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9625-z>
- Al-Kahtani, H., Ismail, E. A., Ahmed, M. A. 2017. Pork Detection In Binary Meat Mixtures And Some Commercial Food Products Using conventional and real-time PCR techniques. *Food Chemistry*, vol. 219, p. 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.108>
- Azuka, N., Iwobi, I., Huber, I., Hauner, G., Miller, A., Busch, U. 2011. Biochip Technology for the Detection of Animal Species in Meat Products. *Food Analytical Methods*, vol. 4, no. 3, p 389-398. <https://doi.org/10.1007/s12161-010-9178-9>
- Bertolini, F., Ghionda, C.M., D'alessandro, E., Geraci, C., Chiofalo, V., Fontanesi, L. 2015. A Next Generation Semiconductor Based Sequencing Approach for the Identification of Meat Species in DNA Mixtures. *PLoS One*, vol. 10, no. 4, p. e0121701 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121701>
- Demirhan, Y., Ulca, P., Senyuva, H. Z. 2011. Detection of porcine DNA in gelatin and gelatin-containing processed food products Halal/Kosher authentication. *Meat Science*, vol. 90, no. 3, p. 686-689. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.10.014>
- Günssen, U., Aydin, A., Ovali, B. Coskun, Y. 2006. Cig et ve ısıl islem görmüş set ürünlerinde ELISA teknigi ile farklı et türlerinin tespiti. *Istanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, vol. 32, p. 45-52.

- Kemp, J. T., Davis, R. W., White, R. L., Wang S. X. 2005. A novel method for STR-based DNA Profiling using microarrays. *J. Forensic Sci.*, vol. 50, no. 5, p. 1109-1113. <https://doi.org/10.1520/JFS2004429>
- Montowska, M., Rao, W., Alexander, M. R., Tucker, G. A., Barrett, D. A. 2014. Tryptic digestion coupled with ambient desorption electrospray ionization and liquid extraction surface analysis mass spectrometry enabling identification of skeletal muscle proteins in mixtures and distinguishing between beef, pork, horse, chicken, and Turkey meat. In *Analytical Chemistry*, vol. 6, p. 4479-4487.
- Ozpinar, H. et al. 2013. Detection of Animal Species in Some Meat and Meat Products by Comparatively Using DNA Microarray and Real Time PCR Methods. In *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, vol. 19, pp. 245-252.
- Ran, G., Ren, L., Han, X., Liu, X., Li, Z., Pang, D., Ouyang, H., Tang, X. 2016. Development of a rapid method for the visible detection of pork DNA in halal products by loop-mediated isothermal amplification. *Food Analytical Methods*, vol. 9, p. 565-570.
- Sahilah, A. M., Fadly, M. L., Norrakiah, A. S., Aminah, A., Wan, A. W. M., Maaruf, A. G., Khan, M. A. 2012. Halal market surveillance of soft and hard gel capsules in pharmaceutical products using PCR and southern-hybridization on the biochip analysis. *Int Food Res J*, vol. 19, p. 371-375.
- Suhaj, M., Kováč, M. 2000. Metódy identifikácie falšovania a autentifikácie potravín. Mäso a mäsové výrobky. *Bulletin potravinárskeho výskumu*, vol. 39, no. 4, p. 241-254.
- Ulca, P., Balta, H., Çağın, İ., Senyuva, H. Z. 2013. Meat species identification and Halal authentication using PCR analysis of raw and cooked traditional Turkish foods. *Meat Science*, vol. 94, no. 3, p. 280-284. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.008>
- Yosef, T. A., Al-Julaifi, M. Z., Al-Rizqi, A. M. 2014. Food forensics: using DNA- based technology for the detection of animal species in meat products. *Nature and Science*, vol. 12, p. 82-90.

Kontaktná adresa: Ing. Lucia Benešová, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: xbenesova@uniag.sk

Přehled metod pro zlepšení textury hovězího masa

Overview of methods for improving the beef texture

Beňo Filip, Bauer Josef, Pohůnek Václav, Nguyen Thi Hang, Ševčík Rudolf

Ústav konzervace potravin, FPBT, VŠCHT Praha

Souhrn

Jakost hovězího masa je úzce spojena s průběhem postmortálních změn. Významným faktorem ovlivňujícím jakost zejména hovězího masa je zrání, během kterého dochází ke zlepšení technologických a senzorických. Při správně vedeném způsobu zrání hovězího masa se zvyšuje jeho křehkost účinkem proteolytických enzymů vyskytujících se v mase. Tyto enzymy se podílejí na rozkládání bílkovin a pojivových tkání a dochází tak k rozvoji typické chuti a aroma hovězího masa. Existují dva technologické způsoby zrání hovězího masa, zrání suché a mokré (vakuové). Suché zrání je proces, kdy nezabalené jatečně upravené tělo nebo jeho část je umístěna do chladicí místnosti, kde je maso ponecháno při řízené teplotě, relativní vlhkosti vzduchu a definovaném proudění vzduchu. Během mokrého zrání je maso vakuově zabaleno do polymerní folie a je skladováno v prostředí s kontrolovanou teplotou po určitou dobu. Cílem této práce bylo zhodnotit zmiňované technologické způsoby zrání a porovnat jejich vliv na kvalitu masa. Dále bylo za úkol navrhnout jiné metody, které vedou ke zvýšení křehkosti masa.

Summary

Quality of beef meat is closely associated with the course of post-mortem changes, during which the muscle becomes flesh. An important factor influencing the quality of beef is the maturation, during which the technological and sensory properties are improved. With the correct way of maturation of beef meat, its brittleness is increased by the effect of proteolytic enzymes found in meat. These enzymes are involved in the breakdown of proteins and connective tissues, resulting in the development of the typical taste and aroma of beef meat. There are two technological methods of maturing beef meat, maturing dry and wet (vacuum). Dry maturation is a process where an unpacked carcass or part thereof is placed in a cooling room where the meat is left at a controlled temperature, relative air humidity, and defined airflow. During wet maturation, the meat is vacuum packed into a polymeric bag and stored in a temperature controlled environment for a period of time. The aim of this work was to evaluate the mentioned technological maturation methods and to compare their influence on meat quality. Another aim of this project was to propose other methods that lead to an increase of beef tenderness.

Úvod

Textura bývá označována za klíčový atribut pro přijatelnost konzumace hovězího masa a zároveň prokazuje to, že konzument je ochotný zaplatit vyšší částku za garantovaný stupeň křehkosti [1]. Křehkost hovězího masa má výraznou proměnlivost a může být (společně s cenou) jedním z důvodů jeho nižší konzumace oproti jiným druhům masa [2]. Proměnlivost křehkosti masa ovlivňují především tyto faktory: stáří a pohlaví zvířete, obsah tuku (mramorování) stupeň a rozsah glykolýzy, množství a rozpustnost pojivové tkáně, délka a míra kontrakce svalových sarkomer, iontové působení myofibril a stupeň degradace myofibrilárních bílkovin proteinázami [3-5]. Křehkost může být vyhodnocena objektivními instrumentálními metodami, senzorickým panelem proškolených hodnotitelů nebo subjektivním hodnocením neproškolených konzumentů. Jako instrumentální metoda se nejčastěji využívá metoda podle Warner – Bratzlera. Tato metoda se používá pro kulinárně upravené i syrové maso a poskytuje deformační křivky pro sílu působící v čase nebo sílu vyvíjenou proti vzdálenosti, o kterou se posunul řezný nůž [6]. Pomocí Warner-Bratzlerovy střížné síly lze křehkost syrového masa klasifikovat do 5 kategorií [4]:

Tabulka 1: Klasifikace masa dle křehkosti na základě Warner-Bratzlerovy střížné síly

kategorie	střížná síla [N]	křehkost
1	> 62,59	velmi tuhé
2	52,78 – 62,59	tuhé
3	42,87 – 52,68	středně tuhé
4	42,77 – 32,96	křehké
5	< 32,96	velmi křehké

Hovězí maso získává požadovanou křehkost během procesu zrání masa. Proces zrání masa zahrnuje enzymatické a biochemické působení, při kterém dochází k rozkladu bílkovin a pojivových tkání ve svalectech, což vede ke zvýšení křehkosti [7, 8]. Zrání masa může probíhat dvěma způsoby, a to mokrým a suchým způsobem (**Tabulka 2**) [9]. Princip suchého zrání spočívá ve dlouhodobém skladování, po dobu několika týdnů nebo i měsíců, celých nezabalených hovězích čtvrtí nebo anatomických partií při řízené teplotě, relativní vlhkosti vzduchu a definovaném proudění vzduchu ve speciálních chladicích místnostech nebo boxech [10, 11]. Jedná se o klimatizované prostory s maximální možnou čistotou a sanitovatelností. Suché zrání se vyznačuje vysokými ztrátami, které vznikají při odstranění přesušených povrchů a dalším případným ořezem. Kvůli těmto důvodům a vysokým ztrátám vody je suché zrání výrazně finančně nákladnější než zrání mokré [11, 12]. Proces mokrého zrání probíhá ve vakuově zabalených anatomických částí v polymerních foliích, které se skladují při teplotě 2 až -1 °C po dobu 7 až 21 dnů. Vakuové balení chrání maso před působením nežádoucích mikroorganismů, vlhkosti a kyslíku [13]. Během zrání ve vakuově uzavřeném obalu je zachována v mase, oproti suchému zrání, vlhkost [14]. Oba výše zmíněné způsoby zrání masa se odlišují i výslednou chutí. Maso ze suchého zrání se vyznačuje více výrazným hovězím a pečeným aroma. Maso z mokrého zrání bývá označováno za více kyselé a železité [9, 11, 12].

Tabulka 2: Porovnání metod suchého a mokrého zrání hovězího masa [15, 16]

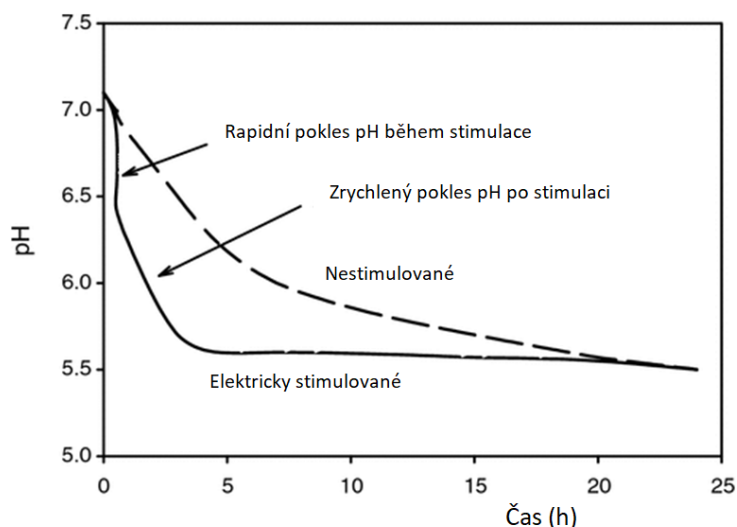
Parametr	Mokrý zrán	Suchý zrán
křehkost	zvýšení	zvýšení
chuť a aroma	nepatrné změny	oříšková vůně, intenzivnější chuť
výtěžnost masa	minimální hmotnostní ztráty	až 30 % ztráty kvůli odparu vody a odkroji povrchu prodejem
ekonomika	je zapotřebí delší doba skladování, méně nákladné	delší doba skladování, požadované technické vybavení a vyšší úbytek váhy, velmi nákladné

Na zrání masa se podílejí především enzymy masa, které se zapojují do metabolických drah v živé tkáni. Mnohé z nich zůstávají aktivní i po porážce zvířete a podílejí se na biochemických reakcích, jejichž produkty ovlivňují kvalitu masa. Endogenní proteasy se podílejí na intermolekulárním štěpení bílkovin a narušují jejich terciární strukturu. Jejich činnost se označuje jako autolýza [17].

Další fyzikální metody a biochemické metody ovlivňující křehkost masa

Ke zvýšení křehkosti je také možné aplikovat exogenní proteasy [17]. Rostlinné enzymy (papain, bromelain a ficin) a mikrobiální proteasy se staly předmětem současných výzkumů. Papain, bromelain a ficin patří do skupiny cysteinových proteas. Jejich substrátová specifita je nízká a katalyzují hydrolýzu mnoha vazeb (peptidová, amidová, esterová a thioesterová) [5, 18]. Zdrojem mikrobiálních proteas jsou například *Bacillus subtilis* a *Aspergillus oryzae*. Alkalická elastasa a proteasa izolované z *B. subtilis* specificky degradují kolagen, elastin a do určité míry degraduje myofibrilární proteiny. *A. oryzae* produkuje aspartátovou proteasu, která omezeně degraduje myofibrilární bílkoviny a její proteolytická aktivita je samovolně inhibována při její vysoké koncentraci [5, 19].

Další možností, která vede ke zvýšení křehkosti masa, je využití elektrostimulace (ES). ES je opakovaná aplikace elektrických pulsů do JUT po porážení [20]. Působení těchto pulsů způsobuje opakované zatínání a uvolňování svalu, což urychluje průběh posmrtných změn a proces zrání masa. Příklad průběhu závislosti pH na čase po porážce mezi JUT s aplikací a bez aplikace ES popisuje Obrázek 1. ES dělíme do tří skupin na základě intenzity použitého proudu: nízkovoltážní ELVES (do 100 V), středněvoltážní LVES (100-110 V) a vysokovoltážní HVES (nad 110 V) [21]. ES způsobuje fyzické rozrušení struktury myofibrilárních proteinů, což zvyšuje křehkost masa. Ze studie Geesinka a kol. (2001) vyplývá, že aplikace elektrických pulsů může negativně ovlivňovat barvu a vaznost vody v závislosti na intenzitě, době a místě působení [22].



Obr. 1: Průběh časové závislosti na pH u elektricky stimulovaných a nestimulovaných jatečně upravených těl po omráčení [21]

Další metodou, která je založena na fyzikálních principech je možnost praktického využití pulzního elektrického pole (PEF) ke zlepšení funkčních vlastností a kvality masa. Mikrostrukturální změny generované pomocí PEF mají potenciál zvýšit křehkost a šťavnatost masa [23]. K tenderizaci masa pomocí PEF dochází vlivem několika různých vzájemně propojených mechanismů. Elektroporace svalových vláken a rychlost pohybu intracelulárních složek jsou zodpovědné za proteolytické procesy. Urychlené uvolňování buněčných složek vede k rychlejší aktivaci biochemických procesů jako je proteolýza a glykolýza ve svalových buňkách. Zvýšená permeabilita buněk může také vést k uvolňování Ca^{2+} iontů potřebných pro aktivaci proteas závislých na vápníku (μ -calpain) a k aktivaci endogenních enzymů, jako jsou calpainy a katepsiny [23, 24].

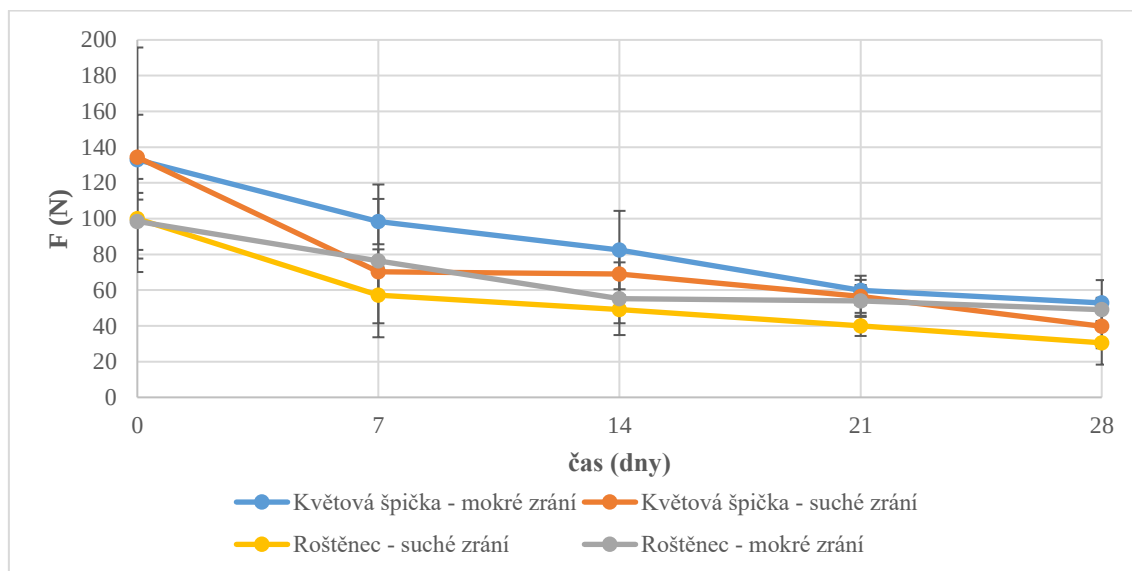
Jedna z dalších metod vedoucí ke zvýšení křehkosti masa je využití ultrazvuku. Použití ultrazvuku vede k tvorbě volných radikálů a k fyzickému narušení svalové tkáně prostřednictvím mechanismů souvisejících s kavitací jako je stříh, tlak a teplota [25]. Ultrazvuk byl studován kvůli jeho schopnosti narušit buněčné membrány, a to přímo oslabením svalové tkáně nebo nepřímo, zrychlením proteolýzy uvolněním buďto katepsinů z lysozomů a/nebo Ca^{2+} iontů z intracelulárních zásob, které pak calpainy aktivují [26].

Materiál a metodika

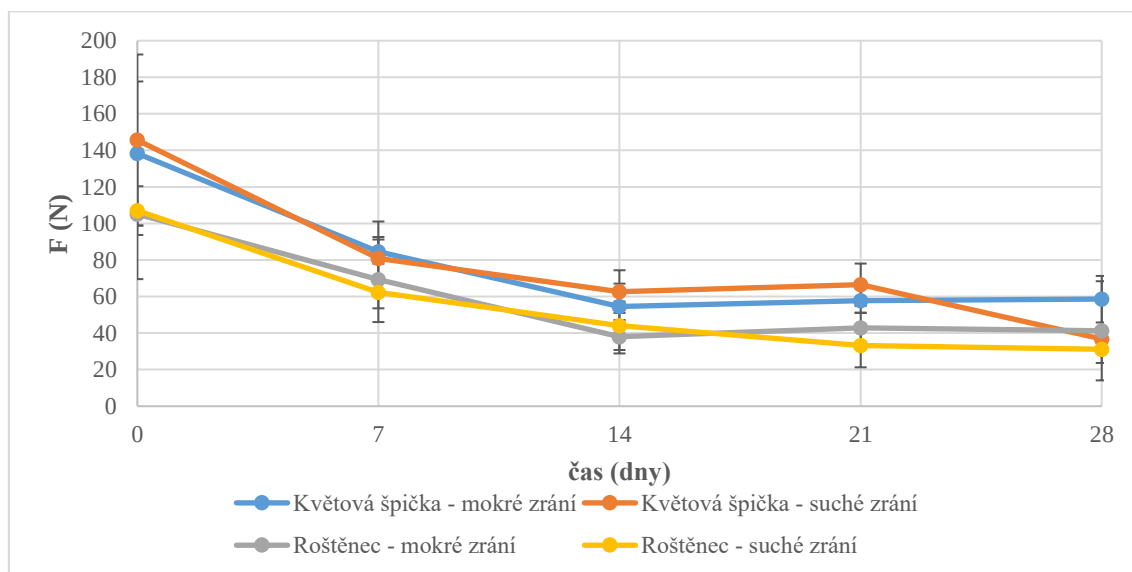
Hodnocen byl vliv suchého a mokrého zrání hovězího masa 2 anatomických částí skotu: nízký roštěnec (striploin steak) a část zadní kýty – květová špička (rump steak). Jeden kus od každé partie se použil na suché zrání, jeden na mokré zrání. Jednalo se o anatomické části jatečně upraveného těla ze stejného kusu zvířete. Zrání masa probíhalo 4 týdny. Vzorky masa pro zrání suchým způsobem byly volně uloženy při 0 °C do klimatické skříně na jednotlivé rošty, aby bylo zaručeno optimální osychání celého povrchu vzorků. Vzorky masa pro zrání mokřím způsobem byly po každém odběru přebaleny a vakuovány do polyethylen-polyamidové fólie.

Výsledky a diskuse

Textura byla měřena instrumentálně pomocí metody Warner-Bratzlera, kdy byla hodnocena maximální střižná síla (Obrázek 2 a 3) na zařízení pro měření mechanických vlastností Instron Model 5544 (Instron, Ltd. Velká Británie).



Obr. 2: Měření maximální střižné síly u syrového masa v průběhu zrání



Obr 3: Měření maximální střižné síly u tepelně upraveného masa (medium) v průběhu zrání

Textura byla měřena jak u syrového tak i u tepelně upraveného masa. Výsledky ukazují, že k výraznému zvýšení křehkosti došlo již po 7 dnech zrání, jak u syrového masa, tak i u tepelně upraveného masa. Největší nárůst křehkosti během 7 dnů zrání byl změřen u květové špičky (syrové maso), která zrála suchou cestou. Její křehkost se za tuto dobu zrání téměř zdvojnásobila. Po 28 dnech zrání vykazuje nejnižší hodnotu střižné síly nízký roštěnec, který zrál suchým způsobem, a to jak u syrového masa, tak u tepelně upraveného. Jedním z důvodů je bohatší mramorování masa, které má nízký roštěnec, dalším je pak tepelná úprava způsobující denaturaci pojivových tkání. Destefanis et al. (2000) uvádí hodnoty střižné síly 42,77 až 32,96 N pro křehké a < 32,96 N pro velmi

křehké syrové maso. Hodnota střižné síly nízkého roštěnce po 28 dnech suchého zrání byla $30,51 \pm 2,85$ N a květové špičky $39,77 \pm 5,13$ N. Naproti tomu hodnoty střižných sil u mas zralých mokrou cestou byly vyšší, a to $49,08 \pm 4,37$ N u roštěnce a $52,83 \pm 6,12$ N u květové špičky. Maso, které zrání suchým způsobem, bylo tedy křehčí, než maso vyzrálé mokřím způsobem.

LITERATURA:

- [1] Chriki, S., et al., *Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics*. Livestock Science, 2013. **155**(2-3): p. 424-434.
- [2] Gomes, C.L., et al., *Temporal changes of tenderness and juiciness of beef strip loin steaks*. Lwt-Food Science and Technology, 2014. **59**(2): p. 629-634.
- [3] Schonfeldt, H.C. and P.E. Strydom, *Effect of age and cut on tenderness of South African beef*. Meat Science, 2011. **87**(3): p. 206-218.
- [4] Destefanis, G., et al., *The use of principal component analysis (PCA) to characterize beef*. Meat Sci, 2000. **56**(3): p. 255-9.
- [5] Sentandreu, M.A., G. Coulis, and A. Ouali, *Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness*. Trends in Food Science & Technology, 2002. **13**(12): p. 400-421.
- [6] Gigard, I., et al., *Contribution of myofibrillar and connective tissue components to the Warner–Bratzler shear force of cooked beef*. Meat Sci, 2012. **92**(4): p. 775-782.
- [7] Fu, Y., J.F. Young, and M. Therkildsen, *Bioactive peptides in beef: Endogenous generation through postmortem aging*. Meat Science, 2017. **123**: p. 134-142.
- [8] Dashdorj, D., et al., *Dry aging of beef; Review*. J Anim Sci Technol, 2016. **58**: p. 20.
- [9] Laster, M.A., et al., *Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer sensory attribute evaluations of steaks from ribeyes, strip loins, and top sirloins from two quality grade groups*. Meat Sci, 2008. **80**(3): p. 795-804.
- [10] Stenstrom, H., et al., *Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag*. Meat Science, 2014. **96**(2): p. 661-666.
- [11] Ahnstorm, M., et al., *Dry ageing of beef in bag highly permeable to water vapor*. Meat Science, 2006. **73**: p. 674-679.
- [12] Khan, M.I., et al., *Postmortem Aging of Beef with a Special Reference to the Dry Aging*. Korean J Food Sci Anim Resour, 2016. **36**(2): p. 159-69.
- [13] Warren, K.E., Kastnes, C.L., *A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef strip loins*. Journal of Muscle Foods, 1992. **3**(151-157).
- [14] Sitz, B.M., Calkins, C. R., Feuz, D. M., Umberger, W. J., Eskridge, K. M., *Consumer sensory acceptance and value of wet-aged and dry-aged beef steaks*. J Anim Sci Technol, 2004. **84**: p. 1221-1226.
- [15] DeGeer, S.L., et al., *Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times*. Meat Science, 2009. **83**(4): p. 768-774.
- [16] Li, P., et al., *Effect of ultimate pH on postmortem myofibrillar protein degradation and meat quality characteristics of Chinese Yellow crossbreed cattle*. Scientific World Journal, 2014. **2014**: p. 174253.
- [17] Ingr, I. *Atypické zrání a kažení masa*. 2003 [cited 2020 January 17]; Available from: <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=1&id=895>.
- [18] Konno, K., et al., *Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex*. Plant J, 2004. **37**(3): p. 370-8.

- [19] Bekhit, A.A., et al., *Exogenous proteases for meat tenderization*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2014. **54**(8): p. 1012-31.
- [20] Hollung, K., et al., *Variation in the response to manipulation of post-mortem glycolysis in beef muscle by low-voltage electrical stimulation and conditioning temperature*. Meat Sci, 2007. **77**: p. 372-383.
- [21] Adeyemi, K.D. and A.Q. Sazili, *Efficacy of carcass electrical stimulation in meat quality enhancement: a review*. Asian-Australas J Anim Sci, 2014. **27**(3): p. 447-56.
- [22] Geesink, G.H., et al., *Electrical stimulation – When more is less*. Meat Sci, 2007. **57**: p. 145-151.
- [23] Alahakoon, A.U., et al., *Pulsed Electric Fields Effects on Meat Tissue Quality and Functionality*. 2016: p. 1-21.
- [24] Lee, S.H. and S.T.R. Joo, Y. C., *Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality*. Meat Sci, 2010. **86**: p. 166-170.
- [25] Jayasooriya, S.D., et al., *Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles*. Meat Sci, 2007. **75**(4): p. 628-39.
- [26] Got, F., et al., *Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on ageing rate, ultrastructure and some physico-chemical properties of beef*. Meat Science, 1999. **51**(1): p. 35-42.

Kontaktní adresa: filip.beno@vscht.cz

Duálna kvalita potravinárskych výrobkov – porovnávacie testy na spoločnom trhu EÚ (medzi Slovenskom a Rakúskom)

Dual Quality of Food Products - Comparative tests on the common EU market (between Slovakia and Austria)

Jozef Čapla, Peter Zajác, Jozef Golian, Lucia Benešová, Ľubomír Belej

Abstrakt:

Všetky potraviny uvádzané na trh EÚ musia spĺňať prísne právne požiadavky na ochranu zdravia spotrebiteľov a na ich pravdivé informovanie o vlastnostiach výrobkov, ktoré majú v úmysle kúpiť. Smernica EÚ o nekalých obchodných praktikách (UCPD) bráni spotrebiteľom v zavádzaní vo viere, že tovar je totožný s tým istým tovarom, ktorý sa predáva v niekoľkých ďalších členských štátoch, zatiaľ čo tento tovar má výrazne odlišné zloženie alebo vlastnosti, čo nemožno odôvodniť legitímnymi a objektívnymi faktormi. Identifikácia rozdielov v zložení alebo charakteristikách tovaru je preto nevyhnutnou, aj keď nepostačujúcou podmienkou na odhalenie takýchto zavádzajúcich praktík.

Abstract:

Food placed on the EU market has to comply with stringent legal requirements to protect the health of consumers and to inform them truthfully about the characteristics of the products they intend to buy. The EU Directive on Unfair Commercial Practices (UCPD) shall prevent consumers from being misled into believing that a good is identical to the same good marketed in several other Member States while those goods have a significantly different composition or characteristics, which cannot be justified by legitimate and objective factors. Identifying differences in the composition or characteristics of a good is therefore a necessary, albeit not sufficient, condition to detect any such misleading practice.

Keyword: dual quality, harmonised methodology, assessing quality

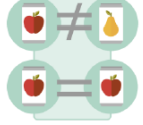
ÚVOD

Diskusia o rozdielnej kvalite potravín s rovnakým názvom a obalom určených na rôzne trhy európskeho spoločenstva vyvolali podnety spotrebiteľov a prvé porovnávacie testy spotrebiteľských organizácii už okolo roku 2010. Pre riešenie otázky dvojakej kvality výrobkov je relevantných viacero právnych predpisov EÚ. Obzvlášť v prípade potravinových výrobkov, štúdie v niektorých členských štátoch EÚ poukazujú na rozdiely vo vlastnostiach súvisiacich s kvalitou (ako sú zloženie a zmyslové vlastnosti) značkových potravín.

Spoločné výskumné centrum (JRC) spolu s ostatnými útvarmi Komisie a v úzkej spolupráci so zástupcami príslušných orgánov členských štátov EÚ, potravinárskeho

priemyslu, maloobchodu a združení spotrebiteľov vytvorili harmonizovaný rámec pre porovnávacie testovanie výrobkov.

Tabuľka 1 Zásady na uplatňovanie spoločného rámca harmonizovanej metodiky

	Zásada 1: Transparentnosť - Transparentné postupy umožňujú všetkým stranám fungovať otvoreným spôsobom. - Znižuje potenciál sporov. - Umožňuje efektívnu komunikáciu medzi stranami pri riešení rozdielov.
	Zásada 2: Zložky hodnotiaceho postupu Zahrňa štyri komponenty a všetky z nich by mali byť náležite zohľadnené: - výber produktov; - plán odberu vzoriek; - vyšetrenie / analýza vzoriek na získanie výsledkov testov; - kritériá, na základe ktorých sa rozhodnutie zakladá na výsledkoch.
	Zásada 3: Porovnateľnosť Náležitá pozornosť sa musí venovať výberu, odberu vzoriek a testovaniu výrobkov, aby sa zabezpečila porovnateľnosť vo všetkých fázach postupu hodnotenia.
	Zásada 4: Vhodné postupy výberu, odberu vzoriek a testovania - Vedecky založené; - Vhodné pre komoditu; - Prispôbte sa určenému účelu a používajte dôsledne; - Skúšobné laboratórium akreditované pre použité metódy, ak je to možné a vhodné; ak akreditácia nie je možná, metódy musia byť aspoň potvrdené; - Praktické a nákladovo efektívne.
	Zásada 5: Inklúzia - Zapája zainteresované strany (prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, príslušné orgány, zástupcovia spotrebiteľov) konsenzom orientovaným spôsobom; - Prediskutovať ich spravodlivo a rovnako.
	Zásada 6: Spravodlivosť - Výber značiek na zahrnutie do testovacích programov musí rešpektovať podiely na trhu značiek v rôznych členských štátoch bez znevýhodnenia majiteľov značiek aktívnych v niekoľkých odvetviach kategórie potravín; - Rešpektuje požiadavky dôvernosti, ktoré platia podľa platných právnych predpisov.

Orgány na ochranu spotrebiteľa a združenia spotrebiteľov z niekoľkých členských štátov EÚ hlásili v rokoch 2016 - 2018 rozdiely v zložení a / alebo senzorických vlastnostiach určitých potravinových výrobkov ponúkaných na ich trhoch v porovnaní s rovnakými výrobkami ponúkanými v iných členských štátoch (tabuľka 2).

Tabuľka 2 Výsledky porovnávacích testov na hodnotenie kvalitatívnych charakteristík vykonaných vo viacerých členských štátoch EÚ.

	Rok testovania	Počet výrobkov	Počet hlásených rozdielov vo výrobkoch
Bulharsko	2017	30	19 (63 %)
Chorvátsko	2017	21	13 (62 %)
Česká republika	2017	42	32 (76 %)
	2015	23	8 (35 %)
Maďarsko	2017	74	49 (66 %)
	2016	31	11 (35 %)
Litva	2017	33	23 (70 %)
Rumunsko	2017	29	9 (31 %)
Slovensko	2017	33	27 (82%)
	2016	22	13 (59 %)
Slovinsko	2017	32	14 (44 %)

Všetky potraviny uvádzané na trh EÚ musia spĺňať prísne právne požiadavky na ochranu zdravia spotrebiteľov a na ich pravdivé informovanie o vlastnostiach výrobkov, ktoré majú v úmysle kúpiť. Smernica EÚ o nekalých obchodných praktikách (UCPD) bráni spotrebiteľom v zavádzaní vo viere, že tovar je totožný s tým istým tovarom, ktorý sa predáva v niekoľkých ďalších členských štátoch, zatiaľ čo tento tovar má výrazne odlišné zloženie alebo vlastnosti, čo nemožno odôvodniť legitímnymi a objektívnymi faktormi. Identifikácia rozdielov v zložení alebo charakteristikách tovaru je preto nevyhnutnou, aj keď nepostačujúcou podmienkou na odhalenie takýchto zavádzajúcich praktík.

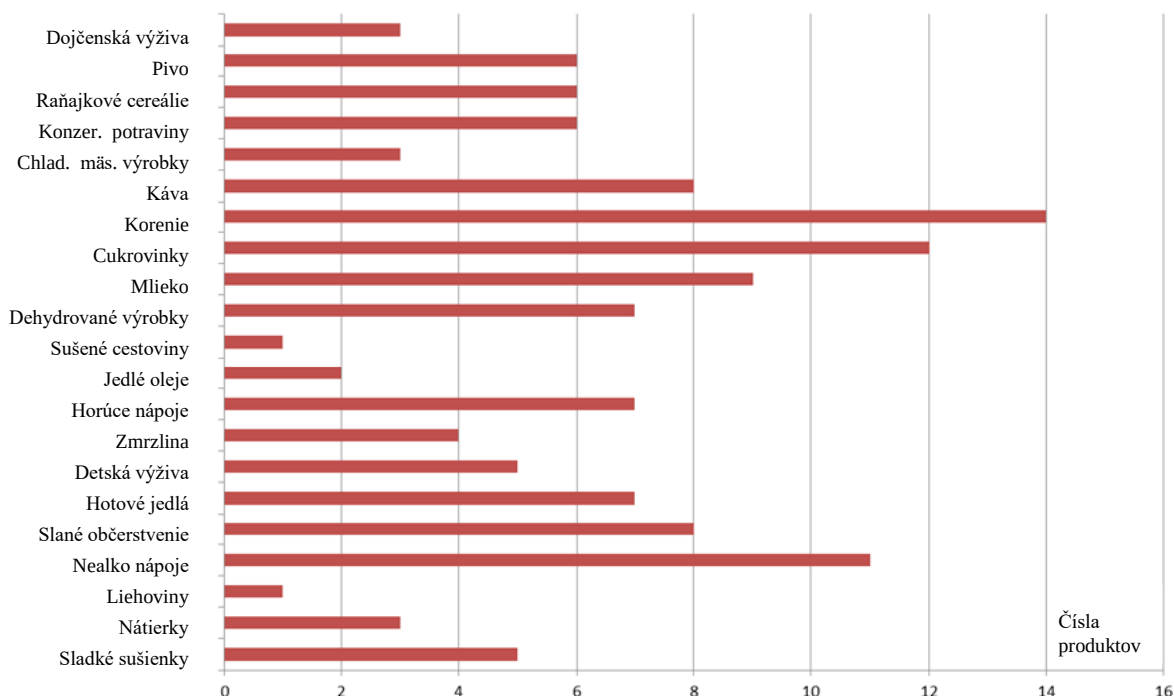
V júni 2019 Spoločné výskumné centrum (JRC) zverejnilo výsledky porovnávacieho prieskumu, pričom devätnásť členských štátov EÚ predložilo informácie uvedené na etiketách výrobkov (113 značkových výrobkov a 15 produktov súkromných značiek). Celkovo tvorili základ pre porovnanie údajov informácie pre 1380 výrobkov.

Porovnávacia štúdia vykonaná JRC v celej EÚ (za obdobie (november - december 2018) preukázala, že:

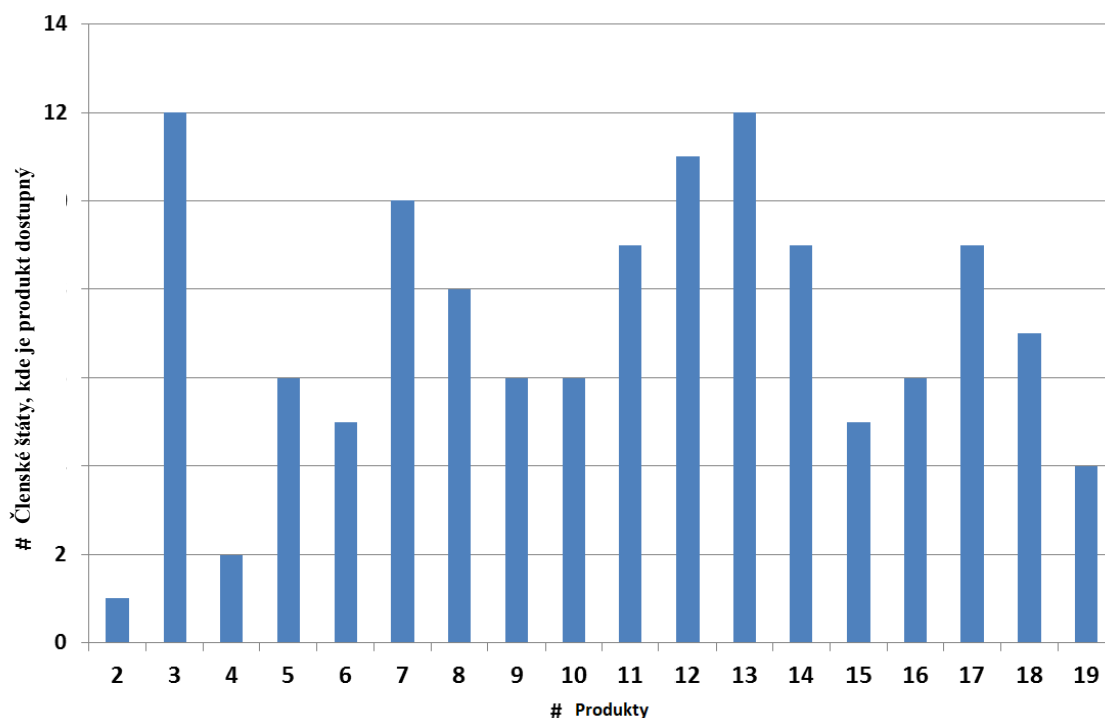
- 31 % výrobkov zahrnutých do tohto prieskumu malo rovnaké zloženie a rovnaké alebo podobné usporiadanie pred balením, nezávisle od členského štátu, v ktorom boli ponúknuté;
- 2 % výrobkov malo rovnaké zloženie, ale predná strana balenia bola odlišná;

- 9 % výrobkov sa líšilo v zložení, ale bez rozlišovania vzhľadu prednej časti balenia v najmenej jednom z 19 skúmaných členských štátov;
- 22 % výrobkov sa líšilo v zložení a do určitej miery uviedlo tieto rozdiely prostredníctvom zmien v grafickom dizajne na prednej strane balenia;
- 27 % výrobkov sa líšilo v zložení a naznačilo tieto rozdiely odlišným vzhľadom na prednú stranu balenia;
- nepozoroval sa žiaden náznak konzistentnej diferenciácie výrobkov týkajúcich sa určitých geografických regiónov zúčastnených členských štátov;
- aj keď sa odobrala veľká vzorka výrobkov ponúkaných na trhoch niekoľkých členských štátov, výsledky prieskumu sa nesmú interpretovať ako reprezentatívne pre celú populáciu potravinových výrobkov ponúkaných v týchto členských štátoch;
- je nevyhnutná účasť vlastníkov značky na hodnotení prípadného porušenia smernice o nekalých obchodných praktikách, aby sa zmierili zistenia posúdenia so znalosťou výrobku vlastníka značky;
- od príslušného vnútroštátneho orgánu by sa vyžadovalo dodatočné posúdenie prípadu, aby sa posúdilo, či by rovnaké uvádzanie výrobkov s výrazne odlišným zložením na trh predstavovalo zavádzajúci postup, čím by porušilo právo EÚ, pričom by sa zohľadnili ďalšie relevantné faktory (najmä legitimita a objektívnosť) vlastníka značky).

Do štúdie bola zahrnutá široká škála potravinárskych výrobkov.



Obrázok 1 Členenie značkových výrobkov, ktoré sa nachádzajú na trhu, do rôznych kategórií potravín



Obrázok 2 Dostupnosť značkových výrobkov v členských štátoch EÚ zahrnutých do prieskumu v celej EÚ

Dostupnosť značkových výrobkov a špecializovaných produktov je určená prítomnosťou obchodných reťazcov, ktoré ich vlastnia. Pre túto porovnávaciu štúdiu v rámci celej EÚ boli zahrnuté produkty ponúkané reťazcami pôsobiacimi prevažne v Rakúsku a Nemecku a ich susedných krajinách v strednej Európe. V dôsledku toho bola väčšina výrobkov na trhu so značkovými výrobkami a špecializovaných trhov k dispozícii iba v niekoľkých členských štátoch. Jeden z obchodných reťazcov má odbytiská v celej EÚ, ktoré umožňovali zber informácií v niekoľkých členských štátoch.

Materiál a metodika

Použili sme vzorky potravín od rovnakých výrobcov s rovnakým označením v názve produktu z dvoch rôznych krajín: Rakúsko (AT) a Slovensko (SK). Vzorky boli zakúpené v rovnakom časovom období a hodnotené v mesiaci apríl 2019 (u vzoriek neuvádzame ich reálne názvy, ale len ako vzorka A, B, C...) ale ich členenie. Hodnotili sme osem druhov výrobkov (cukrovinky, nátierka, tyčinky). Jednotlivé výrobky sme porovnávali navzájom medzi sebou a hodnotili zloženie výrobkov a výživové hodnoty. Porovnávali sme jednotlivé zložky uvedené na obaloch a zisťovali sme, ktoré zložky sa zhodujú a ktoré sú naopak odlišné alebo sa na obale nachádzajú/nenachádzajú. Údaje sme zapisovali do tabuliek. Všetky výživové hodnoty z obalov sme u každého výrobku prepočítali na 100 g a porovnali. Hodnotili sa hlavne rozdiely v energetickej hodnote, tukov, bielkovín, sacharidov a cukrov. Porovnávali sme duálnu kvalitu medzi výrobkami zo Slovenska a Rakúska.

Výsledky práce

Zistenia z nášho hodnotenia 8 značkových výrobkov uvádzaných na trh na Slovensku a Rakúsku uvádzame v nasledujúcich tabuľkách.

Tabuľka 3 - Porovnanie výživových údajov hodnotených značkových výrobkov 1/2

Vzorky	Výrobca A – čokoládová tyčinka		Výrobca B – nátierka z lieskovicov a kaka		Výrobca C – čokoládová tyčinka		Výrobca D – gumené cukríky	
	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh
Energetická hodnota (kcal)	495	492	511	500	521	521	343	343
Tuky g	23,8	24	25,4	25	28	27,6	<0,5	<0,5
nasýtené MK	13,7	14	9,1	9,6	15	15,5	0,1	0,1
Sacharidy g	65,10	65	61,7	65,3	59	58,8	77	77
Vláknina	-	-	-	-	47	46,6	-	-
z toho cukry g	48,30	49	43,4	44,2	1,8	1,8	46	46
Bielkoviny g	4,30	4,4	7,4	7,69	8,5	8,5	6,9	6,9
Soľ g	0,38	0,41	0,64	-	0,26	0,25	0,07	0,07

Tabuľka 3 - Porovnanie výživových údajov hodnotených značkových výrobkov 2/2

Výživové údaje	Výrobca E – čokoládová tyčinka		Výrobca F – Čokoládové cukríky		Výrobca G – čokoládové cukríky v dražé		Výrobca H – cukríky	
	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh
Energetická hodnota (kcal)	483	481	404	404	480	480	-	397
Tuky g	23	23	4,2	4,2	19	19	-	0,5
nasýtené MK	8	7,9	1,5	1,5	11,7	11,7	-	0,5
Sacharidy g	61	61	90,7	90,7	70,7	70,7	-	97,5
Vláknina	-	-	-	-	-	-	-	-
z toho cukry g	51	52	89,8	89,8	67,3	67,3	-	94,5
Bielkoviny g	8,6	8,6	0	0	5	5	-	0,1
Soľ g	0,6	0,63	0,02	0,02	0,13	0,13	-	0,028

Poznámka: vyššia hodnota je zvýraznená.

Tabuľka 4 – Porovnanie zloženia potravín hodnotených značkových výrobkov 1/2

Výrobca/ trh	Výrobca A – čokoládová tyčinka		Výrobca B – nátierka z lieskovcov a kakaa		Výrobca C – čokoládová tyčinka		Výrobca D – cukríky	
Zloženie	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh
	cukor, glukózový sirup, pšeničná múka, palmový tuk, kakaové maslo, sušené odtučené mlieko, kakaová hmota, mliečny tuk, laktóza, sušená syrovátka (z mlieka), emulgátory (sójový) lecitín, E442), jedlá soľ, odtučený kakaový prášok, kypriaca látka E500, prírodný vanilkový extrakt, môže obsahovať stopy lieskovcov, mandle, jačmeň, ovos sušenka 25 % karamel 32 %, mliečna čokoláda 35 %	cukor, glukózový sirup, pšeničná múka (17 %), palmový tuk, kakaové maslo, sušené odtučené mlieko, kakaová hmota, mliečny cukor, mliečny tuk, sušená syrovátka (z mlieka), odtučený kakaový prášok, emulgátory (sójový) lecitín, E442), prírodný vanilkový extrakt, môže obsahovať stopy lieskovcov, mandle, jačmeň, ovos sušenka 26 % : karamel 32 %, mliečna čokoláda 35 %	nátierka z lieskovcov a kakaa 74 %: cukor, palmový olej, lieskové oriešky 17 %, sušené odtučené mlieko 8,7 %, kakaový prášok so zníženým množstvom tuku 7,4 %, emulgátor: lecitíny (sójové), vanilín tyčinky 25,9 %: pšeničná múka, palmový olej, jedlá soľ, extrakt z jačmenného sladu 1,3 %, droždie, môže obsahovať sóju	nátierka z lieskovcov a kakaa 74 %: cukor, palmový olej, lieskové oriešky 17 %, sušené odtučené mlieko 8,7 %, kakaový prášok so zníženým množstvom tuku 7,4 %, emulgátor: lecitíny (sójové), vanilín tyčinky 25,9 %: pšeničná múka, palmový olej, jedlá soľ, extrakt z jačmenného sladu 1,3 %, droždie, môže obsahovať sóju	oblátka 1,3 % s kakaovou náplňou 19,5 % v mliečnej čokoláde 68,2 % cukor, sušené mlieko odtučené, pšeničná múka, kakaové maslo, palmový tuk, kakaová hmota, mliečny tuk, sušený výrobok mliečnej srvátky, 1,3 % kakaového prášku so zníženým množstvom tuku, emulgátor (lecitíny), arómy, jedlá soľ, kypriaca látka (hydrogénuhlíčitán sodný).	oblátka v mliečnej čokoláde 68,2 % cukor, sušené mlieko odtučené, pšeničná múka, kakaové maslo, palmový tuk, kakaová hmota, mliečny tuk, srvátka, odtučené kakao, emulgátor (lecitíny), arómy, jedlá soľ, kypriaca látka (hydrogén uhličitán sodný).	glukózový sirup, cukor, jedlá želatína, dextróza ovocná šťava z koncentrátu: jablko, jahoda, malina, pomaranč, citrón, ananas. kyselina citrónová ovocné a rastlinné koncentráty: požlt farbiarsky, riasa spirulina, jablko, čierna baza, pomaranč, čierne ríbezle, kivi, citrón, arónia, mango, mučenka, hrozno, aróma, extrakt z bazy čiernej leštiace látky: včelí vosk biely a žltý, karnaubský vosk	glukózový sirup, cukor, želatína, dextróza ovocná šťava z koncentrátu 2 %: ananas, jablko, jahoda, malina, pomaranč, citrón. kyselina citrónová ovocné a rastlinné koncentráty: baza, arónia, hroznové víno, čierne ríbezle, citrón, pomaranč, marakuja, mango, jablko, kivi, požlt farbiarsky, spirulina. aróma leštiace látky: včelí vosk biely a žltý, karnaubský vosk. bazový extrakt

Tabuľka 4 – Porovnanie zloženia potravín hodnotených značkových výrobkov 2/2

Zloženie	Výrobca E – čokoládová tyčinka		Výrobca F – Čokoládové cukríky		Výrobca G – čokoládové cukríky		Výrobca H – cukríky	
	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh	Slovenský trh	Rakúsky trh
	mliečna čokoláda (35 %), nugát (16 %) , karamelová náplň (27 %), pražené arašidy (22 %), cukor, glukózový sirup, arašidy, sušené odtučené mlieko, kakaové maslo, kakaová hmota, palmový tuk , slnečnicový olej, laktóza , sušená srvátka (z mlieka), mliečny tuk, palmový tuk, jedlá soľ, emulgátor (sójový lecitín), sušený vaječný bielok, mliečna bielkovina, prírodný vanilkový extrakt, môže obsahovať oriešky	mliečna čokoláda, krém (16 %), karamel (27 %), pražené arašidy (22 %), cukor, glukózový sirup, arašidy, sušené odtučené mlieko kakaové maslo, kakaová hmota, slnečnicový olej, mliečny cukor, maslo, sušená srvátka (z mlieka), palmový tuk , soľ, emulgátor (sójový lecitín), sušený vaječný bielok, mliečna bielkovina, prírodný vanilkový extrakt, môže obsahovať oriešky	cukor, glukózový sirup, palmový tuk, kyselina citrónová, kyselina jablčná, dextrín, maltodextrín, aróma, modifikovaný škrob, regulátor kyslosti: citrán sodný farbivá: E120, E100, E171, E132, E160e, E133 povlaková látka: karnaubský vosk	cukor, glukózový sirup, palmový tuk, kyselina citrónová, kyselina jablčná, dextrín, maltodextrín, aróma farbivá: E162, E171, E100, E160a, E132, E133, E163, E160e modifikovaný škrob regulátor kyslosti: citrán sodný povlaková látka: karnaubský vosk	čokoládové dražé mliečna čokoláda 68 %, cukor, kakaová hmota, sušené plnotučné mlieko, laktóza, kakaové maslo, škrob, palmový tuk, glukózový sirup, bambucký tuk, stabilizátor(arabská guma), emulgátory (sójový lecitín, slnečnicový lecitín), farbivá dextríny, leštiaca látka (karnaubský vosk), palmojadrový tuk, jedlá soľ, prírodná vanilková aróma, aróma môže obsahovať: (arašidy, mandle, lieskové oriešky) Farbivá: E100, E133, E160a, E162, E171, E172	čokoládové dražé mliečna čokoláda 68 % cukor, kakaová hmota, sušené plnotučné mlieko, laktóza, kakaové maslo, škrob, palmový tuk, glukózový sirup, bambucký tuk, stabilizátor (arabské guma), emulgátory (sójový lecitín, slnečnicový lecitín), farbivá dextríny, leštiaca látka (karnaubský vosk), palmojadrový tuk, jedlá soľ, prírodná vanilková aróma, aróma môže obsahovať: (arašidy, mandle, lieskové oriešky) Farbivá: E100, E133, E160a, E162, E171, E172	cukor, maltodextríny, fruktóza, zahusťovadlo (arabská guma), ryžový škrob, protihrudkujúca látka E470b , arómy, mäťová esencia, povlaková látka (karnaubský vosk)	cukor, maltodextríny, fruktóza , zahusťovadlo (arabská guma), ryžový škrob, protihrudkujúca látka: - horčíkové soli mastných kyselín arómy, mäťová esencia, povlaková látka (karnaubský vosk)

Záver

Na základe nášho hodnotenia sme zistili rozdiely v zložení v rámci výrobkov u vzorky A, kde pšeničná múka v AT výrobku bola vyjadrená v percentách (17 %), v SK výrobku nebola uvedená v %. Ďalej bol zistený rozdiel v podiely sušienky, kde v SK výrobku bol podiel sušienky 25 % a v AT výrobku bol podiel sušienky 26 %. V SK výrobku bola uvedená kypriaca látka E500, výrobok z AT túto látku neuvádza. U vzorky C sme zistili rozdiely v zložení u výrobkoch, kde v SK výrobok mal podrobnejšie uvedené percentuálne podiely jednotlivých zložiek. U vzorky D sa v hodnotených výrobkoch nachádzali odlišné druhy niektorých ovocných štiav z koncentráta a ovocné a rastlinné koncentráty ako napríklad marakuja, ktorá sa nachádzala iba v AT výrobku. Taktiež poradie uvedených zložiek bolo odlišné, napríklad v SK výrobku je na prvom mieste jablko a v AT výrobku je na prvom mieste ananás. U vzorky E mal SK výrobok uvedený palmový tuk na siedmom mieste, zatiaľ čo AT výrobok mal palmový tuk na jedenástom mieste. SK výrobok mal uvedený nugát a karamelovú náplň a AT výrobok mal uvedený krém a karamel. Vzorka F: rozdiely sme analyzovali v obsahu zložky E120 ktorá je uvedená len v SK výrobku a zložka E163 je uvedená len v AT výrobku. E120 je kyselina karmínová, ktorá môže spôsobovať rakovinu, alergické reakcie, hyperaktivitu u detí. V EÚ je povolené použitie len pre vybrané kategórie potravín a v obmedzenom množstve. E163 – Anthokyany: nie sú známe žiadne nežiaduce účinky. V EÚ je použitie farbiva povolené s výnimkou detskej potravy. Z toho vyplýva, že v prípade výrobku vzorka F bolo v SK výrobku použité menej vhodné farbivo pre ľudské zdravie ako vo výrobku predávaného v AT.

Harmonizovaná metodika testovania vypracovaná Generálnym riaditeľstvom pre spoločné výskumné centrum v úzkej spolupráci a po dohode so všetkými zainteresovanými stranami (výrobcovia, maloobchodníci, úradné kontrolné orgány a spotrebiteľské organizácie) sa uplatňuje pri navrhovaní a organizovaní porovnávacieho testovania potravinárskych výrobkov zakúpených v reprezentatívnom čísle členských štátov EÚ. Každé testovanie musí poskytnúť objektívne dôkazy o tom, či existujú rozdiely v kvalitatívnych charakteristikách značkových potravín. „Význam“ rozdielu v zložení alebo zmyslových vlastnostiach výrobku je kľúčovým prvkom navrhovanej zmeny v rámci novej dohody o spotrebiteľoch, ktorej cieľom je poskytnúť väčšiu právnu jasnosť pre príslušné orgány na presadzovanie právnych predpisov o právach spotrebiteľov v členských štátoch.

LITERATÚRA

1. COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE COUNCIL AND THE EUROPEAN ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE A New Deal for Consumers, COM/2018/0183 final. This harmonised framework is referred to in Recital (42) of the Commission proposal 2018/0090 (COD) to amend inter alia Directive 2005/29/EC on Unfair Commercial practices.

2. Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers.
3. Food safety and quality in Europe: aspects concerning in particular quality, nutritional balance, the importance of agricultural land and cultural heritage ("terroirs"). Twenty-fourth FAO Regional Conference for Europe, Montpellier, France, 5-7 May 2004 (<http://www.fao.org/docrep/MEETING/007/J1875e.HTM>)
4. Klaus G. Grunert. 2005. Food quality and safety: consumer perception and demand. *European Review of Agricultural Economics*. 32:369-391.
5. Vranešević T., Stančec, R. 2003. The effect of brand on perceived quality of food products. *British Food Journal* 195: 811–825
6. Brunsø K., Ahle Fjord T., Grunert K.G. 2002. Consumers' food choice and quality perception. The Aarhus School of Business, Working paper no 77, ISSN 0907 2101
7. Consumers' Choice '11. GfK Panel Services Deutschland und Bundesvereinigung der Deutschen Ernährungsindustrie e. V. <https://www.bve-online.de/presse/infoteh/publikationen-jahresbericht/consumers-choice2011>
8. Special Eurobarometer 389: Europeans' attitudes towards food security, food quality and the countryside (2012) http://ec.europa.eu/commfrontoffice/publicopinion/archives/ebs/ebs_389_en.pdf
9. Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.
10. Directive 2005/29/EC of the European Parliament and of the Council of 11 May 2005 concerning unfair business-to-consumer commercial practices in the internal market.
11. Also see the Commission Staff Working Document – Guidance on the Implementation/application of Directive 2005/29/EC on Unfair Commercial Practices (SWD(2016) 163 final).
12. Commission Notice on the application of EU food and consumer protection law to issues of Dual Quality of products — The specific case of food (2017/C 327/01).

Pod'akovanie:

" Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508".
..

Kontaktná adresa: Ing. Jozef Čapla, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: jozef.capla@uniag.sk

POROVNANIE ZLOŽENIA VYBRANÝCH MÄSOVÝCH VÝROBKOV NA ZÁKLADE KVALITATÍVNYCH UKAZOVATEĽOV

COMPARISON OF COMPOSITION OF SELECTED MEAT PRODUCTS BASED ON QUALITATIVE INDICATORS

Golian, Jozef. Čapla, Jozef. Belej, Ľubomír., Benešová, Lucia., Zajác, Peter

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V práci sme analyzovali kvalitatívne ukazovatele a obsah mäsa v 5-tich skupinách tepelne opracovaných mäsových výrobkoch. V priebehu roka 2019 boli vykonané 2 série analýz po 48 vzoriek. Medzi jednotlivými ukazovateľmi sme zistili štatisticky významné rozdiely. Vzájomným porovnávaním obsahu mäsa v hodnotených výrobkoch neboli zistené štatisticky významné rozdiely ($p > 0,05$). U jednotlivých výrobkov neboli zistené nepovolené prísady. Na základe hodnotenia výsledkov môžeme konštatovať, že výrobky mali pomerne vyrovnanú kvalitu. Nezistili sme zásadné rozdiely v kvalite resp. dvojité kvalitu výrobkov.

Kľúčové slová: mäkké mäsové výrobky, kvalita, analýzy, obsah mäsa

Abstract

In this work we analysed qualitative indicators and meat content in 5 groups of heat-treated meat products. In the course of 2019, 2 series of 48 samples were performed. We found statistically significant differences between individual indicators. Comparison of meat contents in the evaluated products did not reveal statistically significant differences ($p > 0.05$). Unauthorized additives were not found for individual products. Based on the evaluation of the results we can conclude that the products were of relatively balanced quality. We found no significant differences in quality or quality. double product quality.

Keywords: soft meat products, quality, analysis, meat content,

Úvod

Aj napriek rôznorodej kvalite sú dnes mäsové výrobky stále považované za drahé, preto výrobca so snahou nevyrobiť draho, priebežne siaha po lacnejších surovinách často do takej miery, že hlavnú surovinu – mäso nahrádza funkčnými prísadami, náhradami rastlinného pôvodu a prídavnými látkami. Slovenský spotrebiteľ pro výbere mäsových výrobkov do značnej miery siaha po takých, kde výhradným kritériom je cena a nie aj kvalita. Aj keď na trhu sú kvalitné výrobky, nedokáže rozlíšiť jej výhody a to predovšetkým vo vzťahu ku svojmu zdraviu.

Globálna produkcia a spotreba mäsa celosvetovo stúpa. Už v roku 2013 sa očakávalo, že celková globálna produkcia mäsa sa priblíži tristo miliónom ton, čo sa potvrdilo. Okrem toho sa očakáva, že dopyt po mäse v rozvojových krajinách sa do roku 2020 zdvojnásobí (Dosi et al., 2006). Táto expanzia dopytu mäsa by mohla byť sprevádzaná mnohopočetnými obchodnými podvodmi. Za najrizikovejšie sú považované zmesné mäsové výrobky napr. výrobky z mletého mäsa (hamburgre, mäsové guľičky, párky, špekačky, paštéty), ktoré sú oveľa rôznorodejšie ako produkty z výsekového mäsa (Giaretta et al., 2013). Spotrebitelia hľadajú na trhu s potravinami vrátane trhu s mäsom nové výrobky a nové príchuť (Kwiecinska et al., 2017). Okrem iného aj spotreba mäsa diviny v európskych krajinách stúpala a bola z pohľadu spotrebiteľa výrazne ovplyvnená geografickou polohou a teda pôvodom mäsa (Tomasevic et al., 2018). Spotrebitelia chcú byť chránení pred klamlivo označenými potravinami, ktoré obsahujú neznáme, či menej cenené druhy mäsa (Giaretta et al., 2013).

Bielkovinové prísady

Vďaka ich vlastnostiam sa jedná o veľmi obľúbené prísady v potravinárskom priemysle. V mäsovéch výrobkoch plnia mnoho funkcií: stabilizujú emulzie (pôsobia ako emulgátory); viažu vodu - zvyšujú pevnosť výrobkov; majú vplyv na chuť a zvyšujú obsah bielkovín (Kameník et al., 2014). Do mäsovéch výrobkov možno použiť bielkoviny živočíšneho, ale aj rastlinného pôvodu. Zo živočíšnych proteínov sa najbežnejšie používa kolagén a plazma, a to samostatne alebo v kombinácii. Najobľúbenejšia bielkovina rastlinného pôvodu bola sója a pri porovnaní ceny verzus funkčnosti vychádza stále najlepšie. Sója vytvára rozpustné sójové izoláty produkujúce pevné gély a vďaka vysokému obsahu bielkovín a malému obsahu zvyškových cukrov je ich chuť neutrálna. Používanie sóje v Česku a na Slovensku výrazne pokleslo kvôli jej zaradeniu do zoznamu alergénov s povinnosťou značenia na etikete výrobku. Taktiež možno uvažovať aj o hrachovej bielkovine, ale tá nevychádza už tak výhodne v porovnaní s živočíšnymi bielkovinami. Pri používaní bielkovinových prísad musíme zvážiť niekoľko faktorov. Jedným z nich je legislatívne obmedzenie ich použitia u niektorých typov výrobkov (Král, 2014).

Sacharidové prísady

Táto skupina je prezentovaná hlavne škrobom, vlákninou a hydrokoloidmi. Ich prídavkom sa zvýši väznosť mäsa a zlepši sa viazanie tuku v diele. Zároveň sa tým znižujú náklady na výrobu a zvyšuje objem (Chrvalová, 2011). Pomerne častou sacharidovou prísadou je škrob (Král, 2014). Pri výrobe mletých mäsovéch výrobkov sa stal zemiakový škrob najobjemnejšou prídavnou látkou. Hlavným dôvodom tak častého používania je jeho nízka cena - vo výrobku slúži ako lacné plnidlo (Chrvalová, 2011). Hydrokoloidy sú využívané hlavne pri výrobe šuniek a celosvalových výrobkov. Medzi najčastejších zástupcov patria keragenany a gummy (Král, 2014). Vláknina sa pridáva do mäsovéch výrobkov ako trend zdravej výživy a zdravotné štýlu a tiež pre svoju schopnosť absorbovať vodu. Ďalej zvyšuje viskozitu, ovplyvňuje textúru a konzistenciu výrobku (Chrvalová, 2011).

Prísady ovplyvňujúce väznosť a výťažnosť

Obzvlášť mimoriadnu funkciu v mäsových výrobkoch majú fosfáty. Ich úlohou je zvýšenie väznosti vody, zvýšenie viskozity diela, zlepšenie emulgácie, zníženie strát pri varení a chladení, zlepšenie krehkosti a šľavnatosti, zlepšenie súdržnosti (plátkovateľnosti), zlepšenie uchovateľnosti (napomáha zníženiu oxidácie a discolorácie). Celý mechanizmus ich funkcie nie je zatiaľ úplne preskúmaný. Možno povedať, že fosfáty umožňujú „otvorenie“ svalových bielkovín (imitácia účinku ATP), čím je uľahčená ich extrakcia, rozpúšťanie a hydratácia. Jednotlivé typy fosfátov majú rôzne vlastnosti v závislosti na ich zložení. Podľa charakteru výroby sa aplikujú rôzne ich kombinácie, napr. na výrobu látok, pre emulgované výrobky (Král, 2014). Pre mäsové výrobky je podľa Nariadenia EÚ č. 1333/2008 limitované najvyššie prípustné množstvo (NPM) 5 000 mg.kg-1 (vyjadrené ako P₂O₅). V odbore spracovanie mäsa sa používajú napr. E339 (fosfát sodný), E340 (fosforečnan draselný) a mnoho iných (Kameník et al., 2014).

Prísady zvyšujúce trvanlivosť

Uplatniť možno napr. kyselinu sorbovú (E200) alebo sorban draselný (E202), ktoré slúžia ako konzervačné prostriedky proti mikroskopickým hubám a sporotvorným baktériám. Pre zníženie aktivity vody je vhodný napr. mliečnan sodný (E325). V minulosti nebolo požívanie vyššie spomínaných prísad u nás povolené, dnes je ich podávanie ovplyvňované už spomínaným Nariadením Európskej komisie č. 1333/2008. Proti zastaveniu určitého spektra mikroorganizmov sa dajú použiť tzv. bakteriocíny, čo sú produkty činnosti ušľachtilej mikroflóry (laktobacilov, pediokokov). Ich prídavok sa dá aplikovať aj vo forme tzv. ochranných kultúr (Ingr, 2003). U rýchlo zrejúcich fermentovaných salám sa pridáva kultúra GDL (glukáno-delta-laktón), ktorá za úlohu okysliť prostredie a tým brániť roznožovaniu mikroorganizmov (Kameník, 2012).

Materiál a metodika

V práci sme analyzovali 48.vzoriek mäsových výrobkov z obchodnej siete v SR. Zamerali sme sa na sledovanie kvalitatívnych ukazovateľov: Obsah celkových bielkovín (CB), celkového dusíka (N), tuku (T), kolagénu (KL), vody a popola, obsah mäsa bez tuku (OMBT) a obsah mäsa (OM).

Odber a príprava vzoriek prebiehala podľa všeobecných zásad a postupov pre odber vzoriek na laboratórne vyšetrenie a postupov v jednotlivých analytických metódach. Za účelom reprezentatívneho odberu bolo odoberaných 300 – 1 000 g vzorky. Na prípravu homogénnej vzorky sme použili min. 200 g odobratého materiálu, nakrájali na menšie kúsky a zhomogenizovali tak, aby pred analýzou neprebehli takmer žiadne zmeny, odoberali sme vzorky na jednotlivé analýzy, podľa postupov uvedených v príslušných normách. Vzorky pred analýzou neboli žiadnym spôsobom konzervované.

Stanovenie čistej svalovej bielkoviny sme vykonali cez viazaný 3-MeHis metódou HPLC s FLD detektorom pre mäso a MV. Stanovenie obsahu dusíka sme vykonali referenčnou

metódou STN ISO937, 2001. Stanovenie obsahu kolagénu cez hydroxyprolín sme vykonali referenčnou metódou ISO 3496,1994. Stanovenie obsahu voľného tuku sme vykonali stanovením obsahu voľného tuku po extrakcii. Obsah voľného tuku sme vypočítali postupom uvedeným v STN ISO 1444, 2002. Obsah tuku sme vyjadrili v percentách hmotnosti a výsledok sme zaokrúhlili na 0,01 %. Stanovenie obsahu vody sme vykonali podľa STN ISO 1442, 2001. Stanovenie obsahu popola sme vykonali podľa ISO 936, 1998 so zaokrúhlením na 0,01 %. Pri analýzach kvalitatívnych ukazovateľov mäsa a mäsových výrobkov sme niektoré hodnoty vypočítali postupmi v jednotlivých metódach, resp. násobením so špecifickými a konverznými faktormi (obsah celkových bielkovín, obsah kolagénu). Tieto hodnoty sme ďalej použili pri výpočte obsahu mäsa v MV, za účelom získania hodnoty legislatívneho parametra, množstvo mäsa najmenej v hmot. % (OMBT a OM).

Na štatistické vyhodnotenie výsledkov bol využitý program Microsoft Office Excel 2007. Boli vypočítané základné variačno-štatistické ukazovatele – priemer, smerodajná odchýlka, minimum a maximum.

Výsledky a diskusia

Výsledky 48 individuálnych vzoriek mäkkých mäsových výrobkov (tab. 1), boli zamerané na hodnotenie vybraných kvalitatívnych ukazovateľov a množstva mäsa.

Tab. 1 Kvalitatívne ukazovatele a obsah mäsa v mäsových výrobkoch (%) I. polrok 2019

	CB	N	T	KL	VODA	Popol	OMBT	OM
Špekáčky (n = 10) SD	11,56 ^a ±1,62	1,81 ^a ±0,22	27,9 ^a ±4,79	3,05 ±0,68	54,1 ^a ±4,56	2,71 ^a ±0,32	46,93 ^a ±8,42	68,2 ^a ±10,86
Spišské párky (n = 10) SD	12,71 ^{ab} ±3,42	1,98 ^{ab} ±0,54	25,38 ^{ab} ±5,08	3,45 ^a ±1,17	57,12 ^{ab} ±5,38	2,59 ^a ±0,39	51,45 ^{ab} ±17,71	72,8 ±23,31
Bratislavské párky (n = 10) SD	12,9 ^a ±1,86	2,06 ^a ±0,31	21,74 ^b ± 4,56	2,85 ^a ±0,85	59,42 ^b ±4,51	2,84 ^{ab} ±0,26	54,24 ^a ±12,04	73,81 ±13,17
Šunková salám (n = 10) SD	15,24 ^b ±1,84	2,38 ^b ±0,36	5,31 ^c ±3,51	0,93 ^b ±0,28	73,68 ^c ±2,63	3,16 ^b ±0,27	67,62 ^b ±9,42	72,76 ±8,93
Liptovská saláma (n = 8) SD	11,47 ^a ±1,49	1,84 ^a ±0,28	19,88 ^b ±5,34	2,56 ±0,61	62,50 ^b ±5,35	2,91 ^{ab} ±0,31	48,52 ^a ±7,91	66,24 ±9,67

SD smerodajná odchýlka, abc – štatistická významnosť v stĺpcoch

Hodnotením analyzovaného obsahu celkových bielkovín a dusíkatých látok sme zistili štatisticky významne vyšší obsah CB a celkového dusíka v Šunkovej saláme porovnaním so Špekáčkami, Bratislavskými párkami a Liptovskou salámou ($p < 0,05$). Rozdiel medzi Šunkovou salámou a Spišskými párkami nebol štatisticky významný ($p > 0,05$). Obsah tuku bol štatisticky významne najnižší v Šunkovej saláme v porovnaní so všetkými

ostatnými výrobkami ($p < 0,05$). súčasne štatisticky významne vyšší obsah tuku bol nameraný v Špekáčkoch v porovnaní s Bratislavskými párkami a Liptovskou salámou ($p < 0,05$). Obsah kolagénu bol štatisticky významne najnižší v Šunkovej saláme v porovnaní so všetkými ostatnými výrobkami ($p < 0,05$). Obsah vody bol štatisticky významne najvyšší v Šunkovej saláme v porovnaní s ostatnými výrobkami ($p < 0,05$). Štatisticky významne nižší obsah vody bol nameraný v Špekáčkoch oproti Bratislavským párkom a Liptovskej saláme ($p < 0,05$). Obsah popola bol štatisticky významne vyšší v Šunkovej saláme v porovnaní so Špekačkami a Spišskými párkami ($p < 0,05$). Hodnotením OMBT sme zistili štatisticky významne vyšší obsah v Šunkovej saláme porovnaním so Špekáčkami, Bratislavskými párkami a Liptovskou salámou ($p < 0,05$). Rozdiel medzi Šunkovou salámou a Spišskými párkami štatisticky významný nebol ($p > 0,05$). Vzájomným porovnávaním OM v hodnotených výrobkoch neboli zistené štatisticky významné rozdiely ($p > 0,05$).

Tab. 2 Kvalitatívne ukazovatele a obsah mäsa v mäsových výrobkoch (%) II. polrok 2019

	CB	N	T	KL	VODA	Popol	OMBT	OM
Špekáčky (n = 10) SD	11,23 ^a ±0,57	1,86 ^a ±0,09	29,49 ^a ±3,48	2,68 ^a ±0,51	52,16 ^a ±3,86	2,58 ^a ±0,22	46,14 ^a ±1,38	67,24 ^a ±10,86
Spišské párky (n = 10) SD	12,01 ^{ab} ±0,88	1,87 ^{ab} ±0,23	23,16 ^a ±6,88	3,45 ^a ±0,78	58,42 ^{ab} ±8,61	2,94 ^{ab} ±0,55	51,45 ^{ab} ±8,32	70,31 ^b ±6,42
Bratislavské párky (n = 10) SD	14,49 ^a ±0,96	2,46 ^a ±0,27	20,74 ^a ±4,06	2,71 ^a ±0,39	62,49 ^{ab} ±3,21	2,92 ^a ±0,45	64,28 ^a ±4,37	81,36 ^a ±5,22
Šunková salám (n = 10) SD	15,07 ^b ±1,72	2,42 ^b ±0,31	5,56 ^b ±2,81	0,98 ^b ±0,46	75,28 ^c ±2,27	3,36 ^b ±0,55	67,29 ^b ±9,73	73,61 ^{ab} ±9,23
Liptovská saláma (n = 8) SD	11,97 ^a ±1,76	2,34 ^a ±0,26	23,46 ^a ±3,37	2,68 ^a ±0,24	58,26 ^b ±1,72	2,66 ^a ±0,12	51,28 ^{ab} ±6,24	77,38 ^{ab} ±8,51

SD smerodajná odchýlka, abc – štatistická významnosť v stĺpcoch

Hodnotením obsahu CB a dusíkatých látok sme zistili štatisticky významne vyšší obsah CB a celkového dusíka v Šunkovej saláme a Bratislavských párkoch porovnaním so Spišskými párkami ($p < 0,05$). Rozdiel medzi šunkovou salámou, Bratislavskými párkami a Liptovskou salámou nebol štatisticky významný ($p > 0,05$). Obsah tuku bol štatisticky významne najnižší v Šunkovej saláme v porovnaní so všetkými ostatnými výrobkami ($p < 0,05$). a štatisticky významne vyšší obsah tuku bol v Špekáčkoch porovnaním so Spišskými a Bratislavskými párkami ($p < 0,05$). Obsah kolagénu bol štatisticky významne najnižší v Šunkovej saláme v porovnaní so všetkými ostatnými výrobkami ($p < 0,05$). Obsah vody bol štatisticky významne najvyšší v Šunkovej saláme v porovnaní so všetkými ostatnými výrobkami a štatisticky významne nižší obsah vody bol v Špekáčkoch v porovnaní so Spišskými a Bratislavskými párkami ($p < 0,05$). Obsah popola bol štatisticky významne vyšší v Šunkovej saláme v porovnaní z Liptovskou salámou ($p < 0,05$). Hodnotením OMBT sme zistili štatisticky významne vyšší obsah

v Šunkovej saláme porovnaním so Špekáčkami a Spišskými párkami ($p < 0,05$). Taktiež bol štatisticky významný aj rozdiel medzi Bratislavskými párkami a Špekáčkami ($p < 0,05$). Vzájomným porovnávaním OM v hodnotených výrobkoch bol najvyšší obsah mäsa v Bratislavských párkoch a štatisticky významne vyššie boli hodnoty v Bratislavských párkoch v porovnaní so Špekáčkami ($p < 0,05$).

Nariadenie Komisie (EHS) č. 226/89 uvádza postup určenia obsahu mäsa pre obchodovanie s mäsovými výrobkami., podľa ktorého sa majú produkty z mäsa zatriediť podľa percenta mäsových zložiek. Nariadenie Komisie (ES) č. 2004/2002 prijalo postup stanovenia obsahu mäsa a tuku v sektore bravčového mäsa v súvislosti s klasifikáciou výrobkov. Naším cieľom bolo zistiť či existujú rozdiely v kvalitatívnych ukazovateľoch mäsových výrobkov, resp. či niektorý zo sledovaných výrobkov nemá v niektorých sledovaných ukazovateľoch rozdielnu kvalitu. Rozdiely, ktoré sme zistili v sledovaných ukazovateľoch nie sú také, ktoré by poukázali na dvojité kvalitu výrobkov, sú to rozdiely, ktoré sú bežne u každého sledovaného druhu mäkkých mäsových výrobkov. Pridávanie rastlinných bielkovín ako možnosť, ktorú uvádza Kameník, (2014) sme nezistili. V súčasnosti je ich prídanie pomerne ľahko odhaliteľné.

Záver

V práci sme analyzovali kvalitatívne ukazovatele a obsah mäsa v 5-tich skupinách tepelne opracovaných mäsových výrobkoch. V priebehu roka 2019 boli vykonané 2 série analýz po 48 vzoriek. Zásadné rozdiely v zložení sledovaných výrobkov sme nezistili medzi vzorkami analyzovanými v I. polroku a v II. polroku. V I. polroku vzájomným porovnávaním OM v hodnotených výrobkoch neboli zistené štatisticky významné rozdiely ($p > 0,05$). V II. polroku vzájomným porovnávaním OM v hodnotených výrobkoch bol najvyšší obsah mäsa v Bratislavských párkoch a štatisticky významne vyššie boli hodnoty v Bratislavských párkoch v porovnaní so Špekáčkami ($p < 0,05$). Obsah kolagénu bol štatisticky významne najnižší v Šunkovej saláme v porovnaní so všetkými ostatnými výrobkami ($p < 0,05$). To svedčí o ich kvalite, pretože tam neboli pridané také časti, ktoré kolagén obsahujú.

Literatúra

- DOSI, A., DI MARO, A., CHAMBERY, G., COLONNA, G., COSTANTINI, S., GERACI, G., PARENTE, A. 2006. Characterization and kinetics studies of water buffalo (*Bubalus bubalis*) myoglobin, Comparative Biochemistry and Physiology Part B. In *Biochemistry and Molecular Biology* [online], vol. 145, no. 2, pp. 230-238 [cit. 2019-02-12]. ISSN: 2575-5048. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.1210>
- GIARETTA, N., ANTONELLA M., DI, G. - LIPPERTA, M., PARENTEB, A., MAROB, A. D. 2013. Myoglobin as marker in meat adulteration: A UPLC method for determining the presence of pork meat in raw beef burger. In *Food Chemistry* [online], vol. 141, pp. 1814-1820 [cit. 2019-02-16]. ISSN: 0308-8146. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.124>

- CHRALOVÁ, Lucie. Vliv kůžových emulzí v měkkých a drobných masných výrobcích na organoleptické vlastnosti. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2011 (diplomová práce).
- INGR, Ivo. Produkce a zpracování masa: *Maso*. Brno: Mendelova univerzita, 2003, str. 8-48. ISBN 80-7157-719-7.
- KAMENÍK, J. a J. BALÁŠ. Potravinářská barviva ke zlepšení i stabilizaci barvy masných výrobků. *Maso*. Brno: Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2015, 26(6), str. 12-19. ISSN 1210-4086.
- KAMENÍK, Josef, Alena SALÁKOVÁ a Bohumíra JANŠTOVÁ. Technologie a hygiena potravin živočišného původu: Nutriční význam masa. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, str. 13-17. ISBN 978-80-7305-723-7.
- KRÁL, O. Výroba celosvalových, tepelně opracovaných masných výrobků z pohledu přídatných látek. *Maso*. Brno: Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, 25(5): 8-14. ISSN 1210-4086.
- KWIECINSKA, K., KOSICKA-GEBSKA, M., GEBSKI, J., GUTKOWSKA, K. 2017. Prediction of the conditions for the consumption of game by polish consumers. In *Meat Science* [online], vol. 131, pp. 28-33 [cit. 2018-11-11]. ISSN: 0309-1740. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.038>
- LONERGAN ed. TOLDRÁ, Fidel. Handbook of Meat Processing: Chemistry and biochemistry of meat [online]. Ames: Wiley-Blackwell, 2010, str. 5-25 [cit. 2015-12-29]. ISBN 13:978-0-8138-2182-5.
- NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 zo 16. decembra 2008 o prídavných látkach v potravinách. (Ú. V. ES L 354, 31.12.2008,).
- STN ISO 937 Stanovenie obsahu dusíka (Referenčná metóda). Mäso a mäsové výrobky. Slovenský ústav technickej normalizácie, Bratislava 2001
- STN ISO1442 Stanovenie obsahu vody (Referenčná metóda). Mäso a mäsové výrobky. Slovenský ústav technickej normalizácie, Bratislava 2001
- STN ISO 1444 Stanovenie obsahu voľného tuku. Mäso a mäsové výrobky. Slovenský ústav technickej normalizácie, Bratislava 2002
- STN ISO 937 Mäso a mäsové výrobky. Stanovenie obsahu dusíka (Referenčná metóda), Bratislava, 2011
- ISO 3496:1994 Meat and meat products — Determination of hydroxyproline content, 1994
- ISO 936:1998 Meat and meat products — Determination of total ash, 1998
- TOMASEVIC, I., NOVAKOVIC S., SOLOWIEJ, B., ZDOLEC, N., SKUNCA, D., KROCKO, M., NEDOMOVA, S., KOLAJ, R., ALEKSIEV, G., DJEKIC, I. 2018. Consumers' perceptions, attitudes and perceived quality of game meat in ten European countries. In *Meat Science* [online], vol. 142, pp. 5-13 [cit. 2018-12-01]. ISSN: 0309-1740. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.016>

Pod'akovanie: Práca vznikla v rámci projektu: VEGA 1/0276/18 a bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508.

Kontaktná adresa: prof. Ing. Jozef Golian, Dr., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

Vývoj a ověření metody pro hodnocení těkavých látek v čerstvých českých medech

Development and verification of method for evaluation of volatile substances in fresh Czech honeys

Grégrová Adéla, Kružík Vojtěch, Nhu Nguyen Thi Quynh, Čížková Helena

**Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 3, 166 28 Praha 6 – Dejvice**

Abstrakt

Cílem naší studie (vypracováno v rámci projektu QK1920344: Ověření autenticity medu pomocí analýzy pylových zrn) byla příprava a ověření metodiky pro hodnocení těkavých látek medu a využití ověřené metody pro proměření profilu těkavých látek autentických českých medů. Soubor 101 vzorků čerstvých medů získaných od tuzemských včelařů v roce 2019 byl podroben stanovení těkavých látek pomocí techniky HS-SPME-GC/MS (*headspace* mikroextrakce s tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostním detektorem). Cílenou analýzou bylo možné identifikovat až 100 sledovaných těkavých látek; majoritními těkavými látkami identifikovanými u 10 medů byly: benzaldehyd, estery mastných kyselin, *p*-cymenen, hotrienol a 2-fenyletanol. Data získaná necílenou analýzou, tj. *fingerprinty* pro kontrolní vzorky, standardy i všechny vzorky medů, byla statisticky zpracována vícerozměrnou statistickou metodou, tj. analýzou hlavních komponent (PCA).

Abstract

The aim of our study (elaborated within the project QK1920344: Assessment of honey authenticity by pollen grain analysis) was to prepare and verify a methodology to assess the volatile substances of honey and to use this method to measure the profile of volatile substances of authentic Czech honeys. For a set of 101 samples of fresh honeys collected from local beekeepers in year 2019, volatiles compounds were determined using the HS-SPME-GC/MS technique (*headspace* solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry). By targeted analysis it was possible to identify up to 100 volatile substances; the major volatile substances identified in 10 analyzed honeys were as follows: benzaldehyde, fatty acids esters, *p*-cymenene, hotrienol and 2-phenylethanol. Data obtained by non-targeted analysis, i.e. fingerprints for control samples, standards and all honey samples, were statistically processed using a multivariate statistical method, i.e. principal component analysis (PCA).

Úvod

Med je komplexní přírodní produkt vytvářený včelami z nektaru rostlin nebo z medovice. Jedná se o sladidlo, jehož složení a vlastnosti se liší podle nektarového nebo medovicového zdroje a také dle místa produkce. Med je v České republice definován

vyhláškou č. 76/2003 Sb. jako přirozený produkt, který neobsahuje žádné další látky (El-Biale a Sorour, 2011; Vyhláška č. 76/2003 Sb.).

Významnými složkami medů jsou těkavé látky podílející se na tvorbě jeho organoleptických vlastností. V medu bylo již identifikováno více než 600 těkavých organických sloučenin, které mohou pocházet z nektaru rostlin nebo mohou vznikat metabolickou činností včel, případně při zpracování či skladování medu. Mezi těkavé látky v medu patří kupříkladu uhlovodíky, aldehydy, alkoholy, ketony, kyseliny, estery aj. Koncentrace těkavých složek v medu kolísá během skladování v důsledku teploty, které je med vystaven (Manyi-Loh a kol., 2011). Všeobecně je analýza těkavých látek v medu aplikována za účelem prokázání jeho botanického a geografického původu, odhalení pochybení při jeho zpracování a zhodnocení bioaktivních látek.

Cílem prezentované studie bylo chromatografické stanovení těkavých látek souboru vzorků autentických českých medů pomocí validované metody (Kružík a kol., 2019) zavedené na pracovišti, pro niž byly ověřeny a optimalizovány dílčí pracovní podmínky jako způsob izolace a kvantifikace těkavých látek a současně byly stanoveny vybrané pracovní charakteristiky metody.

Materiál a metody

Materiál:

Příprava vzorku: 30 g medu bylo smíseno s 10 ml destilované vody v plastové vzorkovnici s víčkem; následně byly z tohoto roztoku medu odpipetovány 4 ml do 10ml SPME krimpovací vialky a mikrostříkačkou bylo dávkováno 20 µl roztoku tří vnitřních standardů, uzavřeno (zakrimpováno) magnetickým víčkem se septem (PTFE/silikon) a promícháno 10 s na vortexu. Proměřen byl soubor 101 vzorků autentických medů shromážděných v roce 2019 od českých včelařů v rámci projektu QK1920344.

Příprava standardů: Zásobní roztok tří vnitřních standardů (benzofenon, ≥ 99 %; 2-metyl-3-heptanon, 99 %; 6-undekanon, analytical standard; Sigma-Aldrich) v metylalkoholu (p.a., Penta) byl připraven ve 100ml odměrné baňce; výsledná koncentrace každého vnitřního standardu v zásobním roztoku byla 10 µg/ml. Zásobní směsný roztok osmi standardů (benzaldehyd, $\geq 99,5$ %; 2-fenyletanol, $\geq 99,0$ %; linalool, 97 %; 2-fenylacetaldehyd, ≥ 95 %; isovaleronitril, 98 %; benzofenon, ≥ 99 %; 2-metyl-3-heptanon, 99 %; 6-undekanon, analytical standard; Sigma-Aldrich) v metylalkoholu byl připraven v 500ml odměrné baňce; výsledná koncentrace každého standardu, až na isovaleronitril, v zásobním roztoku byla 0,01 g/l a pro isovaleronitril 1 g/l. Ze zásobního směsného roztoku standardů bylo mikrostříkačkou dávkováno 20 µl do 4 ml destilované vody ve vialce, zakrimpováno a promícháno na vortexu. Ze zásobní lahvičky standardu alkanů (C8-C20, analytical standard, 40 mg/l; Sigma-Aldrich) byl dávkován 1 µl roztoku přímo do 10ml SPME vialky.

Blank (prázdný vzorek): 4 ml destilované vody byly dákovány do 10ml SPME vialky.

Vzorky medů byly skladovány ve vzorkovnicích při laboratorní teplotě. Kontrolní vzorek medu byl skladován v plastových vzorkovnicích při -18 °C po maximální dobu 1 roku.

Zásobní roztoky standardů (vnitřní standardy a směsný roztok standardů) byly uchovány ve skleněných odměrných baňkách do 10 °C po maximální dobu 3 měsíců.

Přístroje a metody:

1) Stanovení bylo provedeno metodou HS-SPME-GC/MS:

- instrument: plynový chromatograf (7890A Agilent Technologies) s hmotnostním detektorem (5975C Agilent Technologies);
- kolona: HP-5MS 5%, 30 m x 250 µm x 0,25 µm;
- teplotní program: 40 °C (výdrž 3 min), 3 °C/min na 160 °C (výdrž 0 min), 10 °C/min na 250 °C (výdrž 10 min), GC Runtime 62 min;
- detekce: hmotnostní detektor 290 °C; MS quad 150 °C; MS source 230 °C;
- průtok: split flow 0,7 ml/min, split ratio 1:1, helium 4.8;
- nástřik: SPME vlákno DVB/CAR/PDMS (50/30 µm; Supelco); pre-inkubační čas 20 min, inkubační teplota 60 °C; pre-inkubační rychlost míchání 250 rpm; extrakce 40 min při 60 °C; teplota desorpce (inlet; Ultra Inert Straight SPME Liner, Splitless, 0,75 mm, volume 35 µl, Agilent) 220 °C, doba desorpce 3 min.

2) Zajištění/kontrola kvality měření a možnost zpětného zhodnocení výsledků:

- do každého vzorku medu byl přidáván roztok 3 vnitřních standardů;
- do sekvence byl zařazován kontrolní vzorek medu a směsný roztok standardů (paralelní měření; každou 20. analýzu) a také standard alkanů (každou 50. analýzu);
- cílenou i necílenou analýzou bylo vyhodnoceno 15 kontrolních vzorků medů s vnitřními standardy a 14 vzorků směsných standardů; s cílem monitorování průběžné stability GC-MS systému byla data průběžně zpracovávána statisticky (PCA).

3) Proměření profilu těkavých látek autentických českých medů:

Bylo provedeno chromatografické stanovení 101 vzorků českých medů (paralelní měření). Po úpravě chromatografických dat (korekce šumu, dekonvoluce, standardizace retenčního času, integrace, normalizace) byla data zpracována následovně:

- chromatogramy byly vyhodnoceny pomocí softwaru HP Chemstation (Agilent Technologies);
- cílená analýza: jednotlivé sloučeniny byly identifikovány na základě srovnání spekter s NIST knihovnou hmotnostních spekter (NIST 14), pomocí Kovatsových retenčních indexů (RI; porovnání s literárními daty a s vypočtenými RI na základě proměřené C8-C20 řady alkanů); separované těkavé látky byly kvantifikovány na základě ploch píků;
- necílená analýza (*fingerprinting*) s následným chemometrickým vyhodnocením: plochy píků byly rozděleny podle retenčních časů pro vzorky medů v paralelních měřeních a předzpracována následujícím způsobem: byly získány plochy píků s velikostí nad 50 000 s využitím funkce a filtrů RTE integrátoru pomocí Chemstation přímo na GC; výsledná konsolidace dat probíhala za pomoci makra v Excelu (srovnání retenčních časů s přesností na 1 setinu minuty) a výsledky byly prezentovány formou matice dat v Excelu.

Vzorky medů i roztoky standardů byly vždy proměřovány minimálně 2x (v případě neshody i vícenásobně). Získané fingerprinty (pro kontrolní vzorky, standardy i vzorky

medů) byly statisticky zpracovány vícerozměrnou statistickou metodou, tj. analýzou hlavních komponent (PCA) pomocí programu Statistica 12 (StatSoft).

Výsledky

Vlastní řešení problematiky zahrnovalo následující fáze a kritické body:

1) Vytvoření metody a ověření metody:

Podmínky měření byly vybrány, modifikovány a optimalizovány na základě předchozích studií, aktualizované literární rešerše a na základě připomínek recenzenta k článku Kružík a kol. (2019) s cílem zlepšení opakovatelnosti, dosažení co nejlepší možné separace látek, získání co největšího celkového počtu píků (eluovaných látek přítomných ve vzorcích medů) a zajištění porovnatelnosti výsledků měření v dlouhodobém horizontu:

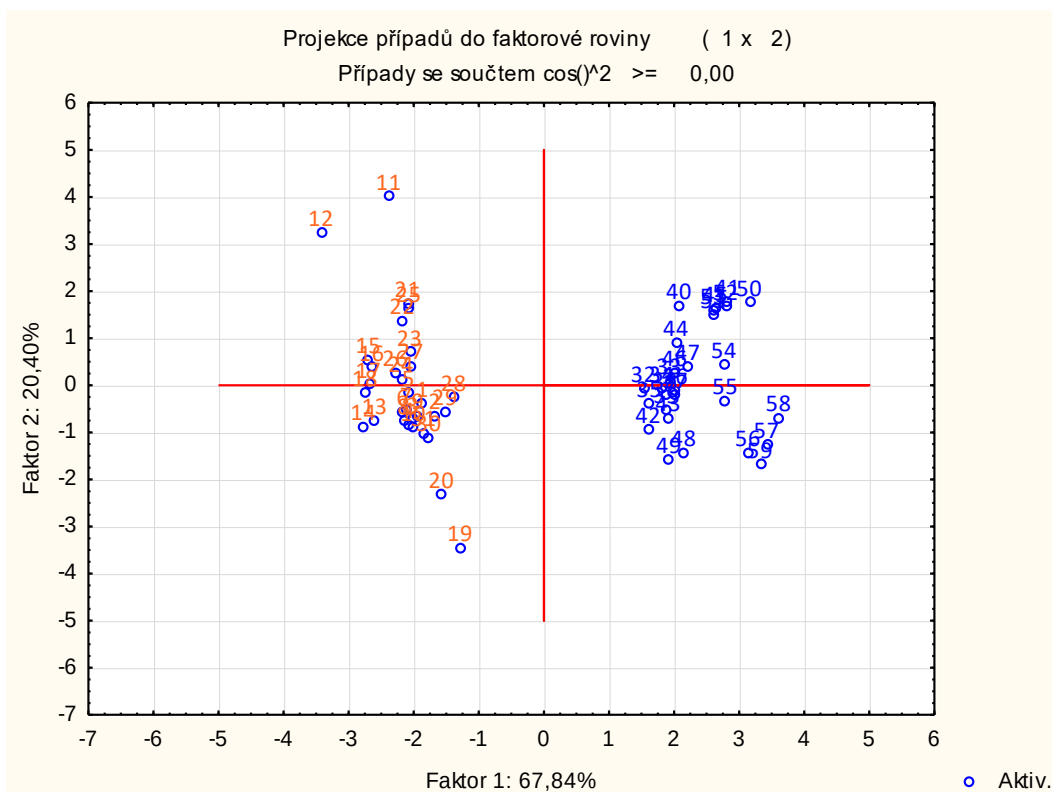
- byly testovány různé sorbenty SPME (DVB/CAR/PDMS a CAR/PDMS);
- byla testována různá doba inkubace (15 min, 20 min a 30 min) a sorpce vzorku (30 min, 40 min a 60 min);
- byla testována inkubace a sorpce vzorku bez míchání a s mícháním (250 rpm);
- byly testovány různé podmínky nástřiku vzorků na kolonu (*Splitless* a *Split*);
- byla pozměněna příprava vzorků i standardů;
- byly testovány 10ml SPME vialky šroubovací i krimpovací;
- bylo zařazeno více interních standardů;
- byl zařazen kontrolní směsný roztok standardů a kontrolní vzorek medu s vnitřními standardy za účelem kontroly kvality a stability měření (Graf 1);
- byl upraven původní příliš rychlý teplotní program;
- byly stanoveny pracovní charakteristiky metody: specifická (rozdíl retenčního času pro všechny matrice menší než 0,03 min); přesnost (RSD max. 10 %); intermediální přesnost (RSD max. 15 %).

Ze statistického zpracování dat pro kontrolní směsné roztoky standardů a kontrolní vzorky medů s vnitřními standardy (Graf 1) jsou patrné dva odlehlé vzorky (paralelní měření), tj. č. 11/12 (>10% chyba mezi paralelními měřeními) a č. 19/20 (vzorek proměřen po uložení v lednici po 2 dnech od jeho přípravy, z čehož vyplývá, že kontrolní vzorek medu je nutné vždy proměřit v tentýž den, kdy byl připraven).

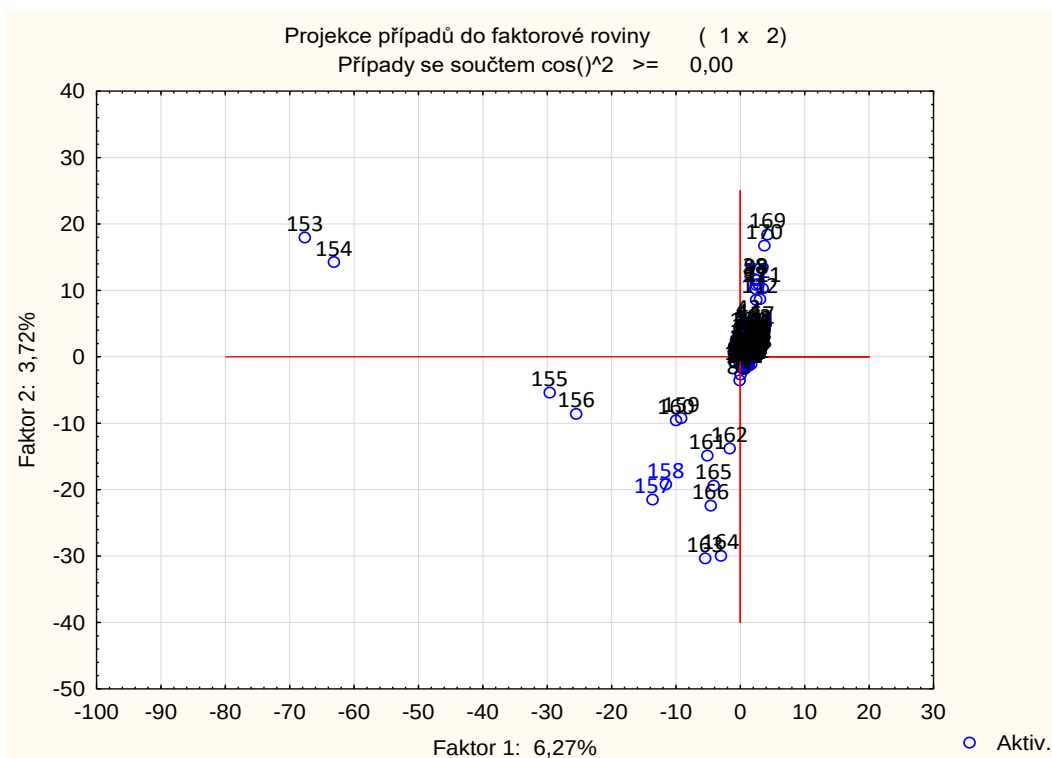
2) Výsledky měření těkavých látek souboru 101 českých medů:

- cílenou analýzou bylo možné identifikovat až 100 sledovaných těkavých látek, přičemž majoritními těkavými látkami identifikovanými u 10 analyzovaných vzorků medů od českých včelařů byly (retenční čas v min): benzaldehyd (14,2); estery mastných kyselin (20,9; 22,5; 27,3); *p*-cymen (20,7); hotrienol (21,6) a 2-fenyletanol (21,8);
- data pro 101 vzorků medů od českých včelařů byla vyhodnocena necílenou analýzou a statisticky zpracována (Graf 2); majoritními těkavými látkami přispívajícími nejvíce k odlišení se vzorku medu č. 153/154 od ostatních vzorků medů pomocí PCA jsou (retenční čas v min) : hotrienol (21,6), 2,6-dimetyl-1,3,5,7-oktatetraen (22,8), lilac aldehyd izomer (23,7), 4-terpinenol (25,3), 4-metylacetofenon (25,4), *p*-cymen-

8-ol (25,6) a 4-(1-metyletyl)benzaldehyd (28,2); další sloučeniny eluované v retenčních časech 23,9 min, 24,5 min, 26,9 min, 29,2 min, 29,5 min a 30,2 min se pomocí dostupných nástrojů nepodařilo spolehlivě identifikovat.



Graf 1 PCA – cílený screening (plochy; kontrolní vzorek među s vnitřními standardy; kontrolní směsný roztok standardů)



Graf 2 PCA – necílený screening vzorků medů (celkově bylo zpracováno 872 proměnných, tj. ploch píků větších než 200 000, přičemž jednotlivé vzorky medů byly charakterizovány od 26 do 89 proměnných s nenulovou hodnotou; **vzorek medu s vodivostí nad 80 mS/m**, tj. medovicový med definovaný dle Vyhlášky č. 76/2003 Sb.)

Závěr

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

- Vypracovaná a optimalizovaná metoda byla ověřena jako vhodná pro účel stanovení profilu těkavých látek v čerstvých českých medech.
- Cílenou analýzou bylo možné identifikovat až 100 sledovaných těkavých látek a byla prokázána poměrně vysoká variabilita mezi vzorky.
- Cílená analýza umožňuje identifikaci a kvantifikaci těkavých indikátorů botanického druhu rostlin a fermentace a zahřátí medu, je však velmi časově náročná (klade si velký nárok na soustředěnost hodnotitele), což zvyšuje riziko chyb.
- Necílená analýza (*fingerprinting*) s následným chemometrickým vyhodnocením byla prokázána jako vhodný nástroj pro vyhodnocování a zpracování chromatografických dat a s výhodou menší časové náročnosti na zpracování chromatografických dat.
- Necílená analýza umožnila z velkého počtu vzorků vytipovat ty, které se z různých důvodů (botanický a geografický původ, způsob produkce a zpracování medu) výrazně odlišují o ostatních, a které budou následně podrobeny cílené analýze.

Poděkování

Výzkum byl financován z projektu QK1920344: Ověření autenticity medu pomocí analýzy pylových zrn (Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025 ZEMĚ).

Literatura

- El-Biale N. M., Sorour M. A. (2011): Effect of adulteration on honey properties. *International Journal of Applied Science and Technology*, 1, 122–133.
- 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.
- Manyi-Loh Ch. E., Ndip R. N., Clarke A. M. (2011): Volatile Coumpounds in Honey: A review on Their Involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12, 9 514–9 532.
- Kružík V., Grégrová A., Zíková A., Čížková H. (2019): Rape honey: determination of botanical origin based on volatile compound profiles. *Journal of Food and Nutrition Research*, 58, 339–348.

Klíčová slova: čerstvý český med; profil těkavých látek; HS-SPME-GC/MS

Kontaktní adresa: Adela.Gregrova@vscht.cz

Hodnocení senzorických vlastností odpadních vod sýrárny

Evaluation of cheese wastewater's sensory properties - Case study

Hanková M., Maturová K., Čížková H.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6, Česká republika

Souhrn

Práce se zabývá charakterizací senzoricky aktivních látek odpadních vod sýrárny odebraných z odtokových kanálů různých částí provozu. Pro analýzu byla provedena mikroextrakce na tuhou fázi ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostním a olfaktometrickým detektorem. (SPME-GC-MS/O). Prostřednictvím dvou olfaktometrických metod byly stanoveny pachové vlastnosti odpadních vod. Metodou detekce frekvence byl popsán zápach a ředící analýzou AEDA byl stanoven příspěvek vybraných senzoricky aktivních látek.

Klíčová slova: *olfaktometrie, těkavé látky, sýrárna*

Abstract

The work deals with the characterization of sensory active substances of dairy wastewater taken from the drains of different parts of the plant. Solid phase microextraction in conjunction with gas chromatography with a mass and olfactometric detector was used for the analysis. (SPME-GC-MS/O). By means of two olfactometric methods the odor properties of dairy wastewater were determined. The odor was described by the detection frequency method, the contribution of selected sensory active substances was determined by the AEDA dilution analysis.

Key words: *olfactometry, volatile compounds, cheese factory*

Úvod

Mlékárenské odpadní vody jsou obecně charakteristické zvýšenou teplotou, vysokým obsahem organických látek, širokým rozsahem pH, nedostatkem dusíku v případě, že se k čištění nepoužívá kyselina dusičná a vysokým obsahem fosforu (vycházející z vysokého obsahu v surovině). Díky širokému spektru používaných prostředků (anorganické zásady, anorganické i organické kyseliny, povrchově aktivní látky, sloučeniny s obsahem chlóru, kvarterní amoniové soli, aj.) a přecházení na výrobu odlišných produktů se i charakter odpadních vod nárazově mění.¹ Pro posouzení tohoto charakteru a kvantifikaci znečištění se používají rozličné parametry, např. biochemická spotřeba kyslíku (BSK = 0,6-7 g/l pro výrobu sýrů) pro množství organických biologicky rozložitelných látek, chemická (CHSK = 0,8-7,6 g/l pro výrobu sýrů) pro biologicky nerozložitelné, z fyzikálně-chemických například pH (6,2-11,3 pro výrobu sýrů) a celkové množství suspendovaných látek (TSS = 0,3-3,4 g/l pro výrobu sýrů).² Odpadní vody sýrárenské technologie kromě zbytků čisticích prostředků obsahují i zbytky mléčné suroviny a tedy vysoké množství tuku, bílkovin, laktózy, kyseliny mléčné, soli a minerálních látek.³ Tyto složky slouží jako substráty pro růst mikroorganismů a jejich metabolismem, působením enzymů nebo tepelnou úpravou mléka vznikají senzoricky aktivní sloučeniny. Jedná se o sloučeniny,

kteřé mohou ovlivňovat okolí svým zápachem a v případě vypuštění do kanalizace i zhoršovat kvalitu životního prostředí.⁴

Cílem práce byla analýza odpadních vod z jednotlivých provozů mlékárenského podniku a určení těch, které s velkou pravděpodobností nejvíce přispívají k jejich zápachu. Aplikací dvou olfaktometrických metod (metoda detekce frekvence – nasal impact frequency - NIF a ředící analýza – aroma extract dilution analysis - AEDA) ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem (GC-MS) byl charakterizován profil sensoricky aktivních (SA) látek a příspěvek k celkovému zápachu (pomocí ředícího faktoru – FD). Ředící faktor je relativní hodnota reprezentující práh vnímání a počítá se pro každou sloučeninu v posledním ředění, ve kterém je látka ještě vnímána hodnotiteli jako $FD = 2^n$ (n = počet ředění). S rostoucím FD faktorem roste intenzita vůně (nebo zápachu) sensoricky aktivních látek.^{5,6}

Materiál a metody

Identifikace sensoricky aktivních látek (SA):

Chemikálie: destilovaná voda, chlorid sodný p.a (Penta), ethanol (Sigma-Aldrich) čistota $\geq 99,5\%$, směs alkanů C8-C20

Hodnotitelé: 4 studenti a zaměstnanci ÚKP, VŠCHT, nekuřáci, absolvovali kurz sensorické analýzy

Příprava vzorků: Do 10 ml SPME vialek bylo naváženo 0,5 g chloridu sodného a napipetováno 4 ml vzorku odpadní vody.

Příprava uhlovodíkové řady pro účely stanovení retenčních indexů a potvrzení identity látek: Do 10 ml SPME vialky byly vpraveny 4 μ l směsi n-alkanů a vzorek změřen pomocí SPME-GC/MS.

Vzorky: Odpadní vody z 6 odběrových míst sýrárny, odebrány v říjnu 2018 a skladovány při

-12 °C. Místo odběru a charakteristika viz. Tabulka 1.

Tabulka 1: Charakteristika analyzovaných vzorků odpadních vod sýrárny

Označení	Odběrové místo	Charakter odpadních vod
1	Kanál z provozu tvrdého sýru	Zbytky mléčné suroviny (mléko, sýřenina, syrovátka, zbytky sýra), pitná voda a sanitační prostředky
2	Kanál z provozu sýřeniny	Zbytky mléčné suroviny (mléko, sýřenina, syrovátka, zbytky sýra), pitná voda a sanitační prostředky
3	Kanál z provozu čerstvé výroby	Podobné jako u předešlých, rozdíl v parametrech (kyselost, tučnost, pH surovin)
4	Kanál z provozu másárny	Podobné jako u předešlých, rozdíl v parametrech (kyselost, tučnost, pH surovin), vyšší obsah máselného tuku
5	Vstup do ČOV	Jedná se o směsnou odpadní vodu ze všech provozů
6	Výstup z ČOV	Upravené odpadní vody

Metoda SPME – GC-MS/O

Přístroje: Plynový chromatograf 7890 B, Agilent Technologies, kapilární kolona DB-5 (30m x 250 µm x 0,25 mm), Agilent Technologies, SPME vlákno DBV/CAR/PDMS, 50/30 µm, SUPELCO, Bellefonte, PA, GC Sampler 80, Agilent Technologies, detektor 5977 A MSD, Agilent Technologies, olfaktometrický detektor JAS, Joint Analytical System, vyhodnocovací software HP ChemStation, knihovna spekter NIST 14

Podmínky metody: vycházejí z práce Cambella a kolektivu z roku 2011⁷. Inkubace 40 °C, 20 min, sorpce 40 °C, 40 min, teplota injektoru 260 °C, split, desorpce 260 °C, 5 min, teplotní program 40 °C, 20 min; nárůst teploty 10 °C / min; konečná teplota 250 °C, split mezi detektory 1:1, mobilní fáze He 5.5, průtok 1,4 ml/min; MSD: 230°C, kvadrupól 150°C

Olfaktometr: JAS, teplota trubice 180 °C, délka restrikce 250 cm, průměr kapiláry 150 µm, průtok vzduchu 40 ml / min (zvlhčovač)

Identifikace SA látek: primárně vyhledáním v integrované knihovně spekter NIST 14, následně pro potvrzení pro hodnotiteli zaznamenané látky byly vypočteny retenční indexy (RI) a srovnány s NIST databází.⁸

Olfaktometrie: metoda NIF pro vzorek 6 byla provedena ředící analýza AEDA, vypočteny FD a spočítán jejich geometrický průměr aproximovaný na nejbližší reálný FD. $FD = 2^n$ (n = počet ředění, v našem případě 1:2 (FD 4), 1:3 (FD 8), 1:6 (FD 64), 1:11 (FD 2048) a 1:50, kdy již nebyl cítit žádný vzorek)

Výsledky a diskuze

Nejprve byl proměřen profil těkavých látek u šesti vzorků odpadních vod, při analýze zároveň čtyři hodnotitelé zaznamenali detekci aroma-aktivních sloučenin pomocí metody NIF. Správnost identifikace byla ověřena retenčními indexy⁸ a srovnáním vjemů s literaturou⁹ (Tabulka 2). Využitím ředící analýzy AEDA byla provedena analýza sady

vzorků č. 6 – odpadní vody odebrané na výstupu z ČOV (ředění 1:2, 1:3, 1:6, 1:11, 1:50) a z výsledných hodnot byly vypočteny parametry FD a jejich geometrický průměr (Tabulka 3). V odpadních vodách 2, 4, 5 byly detekovány sloučeniny, které nebylo možné prostřednictvím GC/MS identifikovat a jsou v tabulce označeny jako NI. V prvním případě (NI, $t_r=2,5$ min) nebylo možné sloučeninu identifikovat z důvodu koeluce s jinými látkami, v druhém případě (NI, $t_r=13,2$ min) z důvodu nízké koncentrace, což v porovnání s GC/MS poukazuje na vyšší citlivost olfaktometrického detektoru (lidského nosu).

Vzorky 4 (kanál z provozu máslárny) a 6 (výstup z ČOV) mají bohaté zastoupení senzoricky aktivních látek, což je demonstrováno sumou ploch SA látek v Tabulce 2. Například sloučeniny nonanal (ovocný), dekanal (sladký), tridekan (umělý), heptanal (zemina, zatuchlý), heptanol (houbový, plesnivý), oktanol (houbový, zatuchlý) mohou svým zápachem negativně ovlivňovat kvalitu vypouštěných odpadních vod. Zatímco výsledky z provozu výroby másla jsou vysvětlitelné vysokým vstupním podílem mléčného tuku a jeho následnou oxidací na detekované alkoholy a aldehydy, výsledky zjištěné na výstupu z ČOV svědčí o nedostatečné funkci nebo kapacitě čistícího zařízení.

Sloučeniny nonanal a dodekanal jsou hodnotiteli detekované i v ředění 1:6 (u jednoho hodnotitele až do ředění 1:11) a většina sloučenin byla cítit do ředění 1:3. Sloučeniny oktanol, nonanal, dodekanal vykazují vyšší FD faktor, což znamená vyšší citlivost vnímání těchto sloučenin hodnotiteli a tedy v nalezených koncentracích největší příspěvek k vůni/zápachu odpadní vody (Obrázek 1).

Tabulka 2: Senzoricky aktivní látky odpadních vod zaznamenané metodou NIF (nasal impact frequency) (alespoň 2 hodnotiteli ze 4 zúčastněných; NI = neidentifikovatelná)

Rt	Název látky	Plochy píků/1000						Vjem (hodnotitelé)	Vjem (literatura)	RI (prakt)	RI (teor)
		1	2	3	4	5	6				
2,50	NI		430		581		488	nasládlý		610	
2,97	3-methylpentanal					506		ovocný	sladký, ovocný, zatuchlý	656	671
5,28	hexanal						191	sladký, zelené jablko	zelený, tučný	800	801
5,36	kyselina máselná	36			82			máslový, sýrový	sladká, tučná, sýrová	805	821
6,66	hexanol						140	umělá, kovová	pronikavý, alkohol, ovocný	872	872
7,09	2-heptanon					39	149	ovocný, sladký	sýrový, ovocný, banánový	892	901
7,25	heptanal	20			36		34	zemina, zatuchlý	zelený, travinný, tučný	899	905
8,51	heptanol				85		92	houbový, plesnivý	plesnivý, zelený, ovocný	972	969
9,50	ethylhexanol	73	11	21	21	62	39	nasládlý, svěží	citrusový, květinový, svěží	1030	1034
10,21	oktanol	18				43		houbový, zatuchlý	houbový, zelený	1074	1063
10,55	2-nonanon					36	159	sladký, citrusy	zelený, citrusový, aldehydový	1093	1093
10,75	nonanal	45	22	16	28	22	58	ovocný, umělý	ovocný, vosk, kokosový	1106	1104
11,62	2-nonenal						27	okurkový, sladký	zelený, okurkový, svěží	1164	1160
11,76	nonanol	13					62	voskový, nasládlý	voskový, krémový, citrusový	1173	1170
12,28	dekanal	8			38		18	sladký	sladký, pomerančový	1208	1203
13,08	2-decenal						32	umělý, tučný	tučný, voskový	1266	1252
13,20	NI				29	9		nasládlý		1274	
13,58	tridekan				70		22	NI, umělý	uhlovodíkový	1300	1300
13,70	undekanal						26	NI, nasládlý	tučný, květinový	1310	1301
15,01	dodekanal						32	mýdlová, nepříjemná	mýdlový, voskový	1409	1402
15,80	dodekanol						41	NI, sladká	květinová	1459	1457
Suma ploch SA látek		213	33	37	389	717	931				

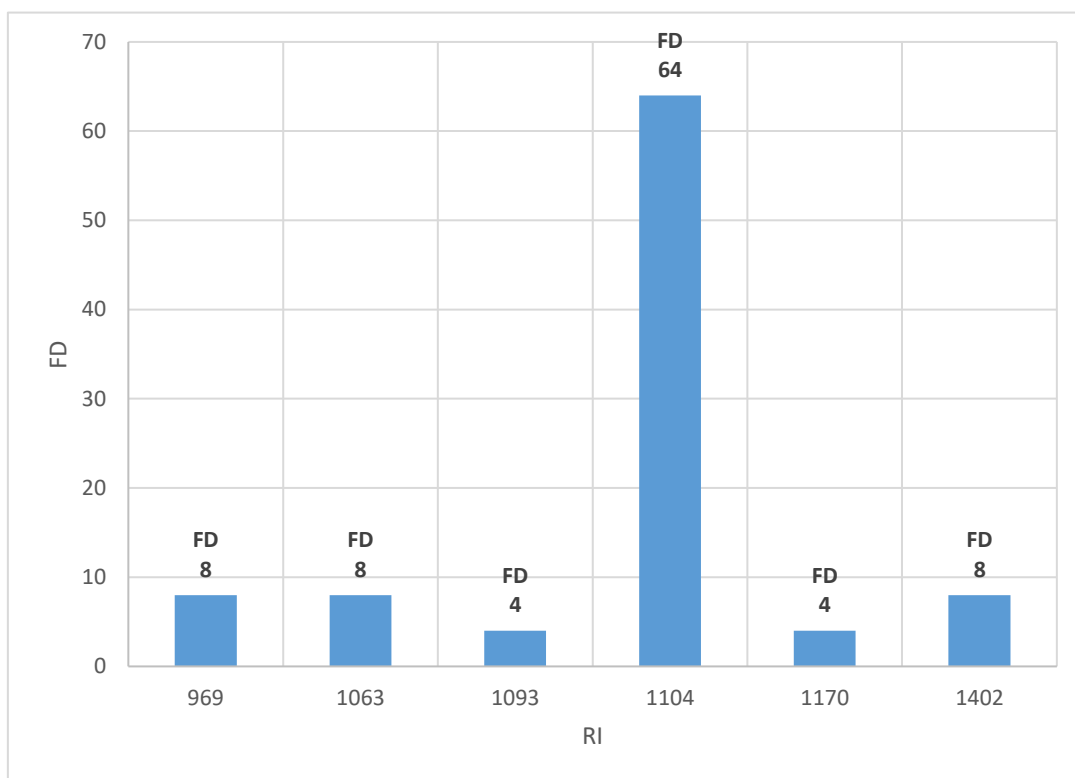
Rt = retenční čas, RI = retenční index, tučně znázorněna látka s nejvyšší hodnotou FD (Tabulka 3)

Tabulka 3: Ředící analýza - senzoricky aktivní látky vzorku 6 detekované alespoň 2 hodnotiteli

Rt	Název látky	RI	FD _{max}	GeoM _{aprox}	Celkový vjem
8,51	heptanol	1063	8	8	houbovitá, zatuchlá
10,21	oktanol	1093	2048	8	zatuchlá, NI
10,55	2-nonanon	1104	64	4	plastová, umělá, kovová
10,75	nonanal	1170	2048	64	umělá, sladká
11,76	nonanol	1402	4	4	nasládlá, plastová
15,01	dodekanal	969	64	8	mýdlová, nepříjemná

Rt = retenční čas, RI = retenční index, FD_{max} = nejvyšší ředící faktor, GeoMaprox = geometrický průměr FD aproximovaný na nejbližší reálnou hodnotu

Obrázek 1: Geometrický průměr FD faktorů jednotlivých sloučenin detekovaných alespoň 2 hodnotiteli



Závěr

Vzorky 2 a 3 (kanál z provozu tvrdého sýru a sýřeniny) byly méně bohaté na senzoricky aktivní látky, byly zde cítit pouze sloučeniny ethylhexanol (nasládlý), nonanal (voskový) a v případě vzorku 2 i neidentifikovaná nasládlá látka. Ředící analýzou bylo zjištěno, že většina sloučenin byla alespoň 2 hodnotiteli cítit pouze do ředění 1:3. Na sloučeniny nonanal a dodekanal byli hodnotitelé nejvíce citliví, zaznamenali ho průměrně do ředění 1:6 (což odpovídá FD 64).

Nonanal (popisovaný jako ovocný a umělý, v literatuře ovocný a voskový)¹⁰ dle měření přispíval k zápachu odpadních vod nejvíce. Práh vnímání jeho vůně ve vodě je uváděn v širokém rozmezí (1-98 µg/l)¹¹⁻¹⁵, pravděpodobně díky významném vlivu podmínek měření a individuální vnímavosti hodnotitelů. Rozdílnou vnímavost jsme pozorovali i při našem měření, kdy byl v jednom případě nonanal cítit až do ředění 1:11 (FD 2048).

Nalezené aldehydy (nonanal dodekanal i oktanal) vznikají oxidací lipidů či mikrobiální degradací mléčné suroviny (například jako produkty metabolismu sinic).¹⁶ Nonanal také vzniká jako vedlejší produkt při použití kyseliny peroctové pro desinfekci.¹⁷ Všechny identifikované látky jsou nositelem zápachu, čímž mohou negativně ovlivnit životní prostředí a nastavení stávající ČOV není dostatečně účinné pro jejich eliminaci.

Poděkování

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství, Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projektem QK1710156 (2017–2021, MZE/QK), v programu QK – Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017–2025 „ZEMĚ“, s dobou řešení projektu: 02/2017–12/2021

Literatura

1. Kolev Slavov A. Dairy Wastewaters – General Characteristics and Treatment Possibilities – A Review. *Food Technol Biotechnol*. 2017;55(1). doi:10.17113/ftb.55.01.17.4520
2. Britz T, Van Schalkwyk C, Hung Y-T. Treatment of dairy processing wastewaters. In: *Waste Treatment in the Food Processing Industry*. Taylor and Francis Group; 2006:1-28. https://books.google.com/books?hl=cs&lr=&id=W0EqBgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Britz+TJ,+van+Schalkwyk+C,+Hung+Y-T.+Treatment+of+Dairy+Processing+Wastewaters.+Waste+Treat+Food+Process+Ind&ots=J_FKjBNAM4&sig=moDsagFF_EwSD04_3tmmRh5r3ps. Accessed January 22, 2020.
3. Leena AV, Meiaraj C, Balasundaram N. BOD/COD a Measure of Dairy Waste Treatment Efficiency-A Case Study. *IOSR J Mech Civ Eng*. 2016;13(5):107-114. doi:10.9790/1684-130508107114
4. Alewijn M. The formation of fat-derived flavour compounds during the ripening of Gouda-type cheese. 2006.
5. Brattoli M, Cisternino E, De Gennaro G, et al. Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC-O): An innovative approach for chemical characterization of odor active Volatile Organic Compounds (VOCs) emitted from a consumer product. *Chem Eng Trans*. 2014;40(Special Issue):121-126. doi:10.3303/CET1440021
6. Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, et al. Smell Chemicals. In: *Handbook of Food Analytical Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2005:223-340. doi:10.1002/0471709085.ch23
7. Campbell RE, Miracle RE, Gerard PD, Drake MA. Effects of Starter Culture and Storage on the Flavor of Liquid Whey. *J Food Sci*. 2011;76(5):S354-S361. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02181.x

8. NIST Chemistry WebBook. <https://webbook.nist.gov/chemistry/>. Accessed January 12, 2020.
9. The Good Scents Company Search Page. <http://www.thegoodscentscompany.com/search2.html>. Accessed January 12, 2020.
10. nonanal (aldehyde C-9), 124-19-6. <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1000292.html>. Accessed January 27, 2020.
11. Plotto A, Margaria CA, Goodner KL, Goodrich R, Baldwin EA. Odour and flavour thresholds for key aroma components in an orange juice matrix: terpenes and aldehydes. *Flavour Fragr J*. 2004;19(6):491-498. doi:10.1002/ffj.1470
12. Czerny M, Christlbauer M, Christlbauer M, et al. Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. *Eur Food Res Technol*. 2008;228(2):265-273. doi:10.1007/s00217-008-0931-x
13. Bartosz G. *Food Oxidants and Antioxidants : Chemical, Biological, and Functional Properties*. CRC Press; 2013.
14. Associates L&. No Title. <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>. Accessed January 27, 2020.
15. Deibler K, Delwiche J, eds. *Handbook of Flavor Characterization*. Vol 131. CRC Press; 2003. doi:10.1201/9780203912812
16. Wu D, Duirk SE. Quantitative analysis of earthy and musty odors in drinking water sources impacted by wastewater and algal derived contaminants. *Chemosphere*. 2013;91(11):1495-1501. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.12.024
17. Cavallini GS, De Campos SX, De Souza JB, De Sousa Vidal CM. Evaluation of the physical-chemical characteristics of wastewater after disinfection with peracetic acid. *Water Air Soil Pollut*. 2013;224(10). doi:10.1007/s11270-013-1752-5

Kontaktní adresa

hankovaa@vscht.cz, Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6, Česká republika

Odolnost mikrobiální kontaminace z nesycených nápojů vůči konzervačním látkám

Resistance of microbial contamination from still beverages to preservatives

Kuncová Gabriela, Horsáková Iveta

VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin

SOUHRN

Tato práce je zaměřena na nesycené nealkoholické nápoje. Věnuje se vybraným původcům mikrobiální kontaminace, které byly izolovány z produktů nápojového průmyslu.

Na těchto modelových mikroorganismech je posuzována účinnost sorbanu draselného, benzoanu sodného a různých hodnot pH, jako forem konzervace nápojů vůči vybraným gram-negativním bakteriím. Výsledky poukazují, že snížení pH nemusí vždy vést k úplné inhibici růstu bakterií, a že v takovém případě je použití výše zmíněných konzervačních prostředků prokazatelně účinné.

Klíčová slova: nealkoholické nápoje, mikrobiální kontaminace, účinnost konzervantů, sorban, benzoan, pH

SUMMARY

This thesis is focused on still soft drinks. It is dedicated to selected agents of microbial contamination, which were isolated from products of beverage industry.

The efficacy of potassium sorbate, sodium benzoate and various pH values as forms of beverage preservation against selected gram-negative bacteria is assessed on these model microorganisms. The results show that lowering the pH may not always lead to complete inhibition of bacterial growth, and that in such a case the use of the preservatives mentioned above is demonstrably effective.

Keywords: soft drinks, microbial contamination, preservative effectiveness, sorban, benzoate, pH

MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE NESYCENÝCH NÁPOJŮ

Díky dynamickému vývoji trhu s nealkoholickými nápoji se přistupuje k využití nových nestandardních surovin a technologických postupů. S tím koreluje i rozšíření portfolia mikroorganismů, které mohou být ve výrobku přítomny. Za znehodnocení produktu a zdravotní závadnost je odpovědná pouze úzká skupina. Mezi časté doprovodné jevy kontaminace patří zhoršení senzorických vlastností, především nežádoucí pachutě, přípachy a vizuální změny (Wareing, 2016; Stratford, 2006; Juvonen a kol., 2011). Kromě přímé kontaminace může být produkt znehodnocen i metabolity produkovány mikroorganismy, které se do procesu výroby dostávají z primárních surovin (Juvonen a kol., 2011).

Klíčovou vlastností mikroorganismů kontaminujících nesycené nápoje je tolerance k nízkým hodnotám pH, typickým pro ovocné šťávy, nízké hladině kyslíku a živin. (Juvonen a kol., 2011; Back, 2005; Stratford, 2006; Lawlor a kol., 2009; Tribst a kol., 2009). Vysoce specializované mikroorganismy se mohou vyskytovat i v produktech, při jejichž výrobě byly dodrženy principy správné výrobní a hygienické praxe. Největší hrozbou pro spotřebitele při správném skladování a distribuci jsou psychrofilní a psychrotrofní organismy, které jsou schopny přežít i chladírenské teploty 0-7 °C (Juvonen a kol., 2011).

Charakteristiky zkoumaných bakterií

V práci byly použity tyto druhy bakterií: *Delftia acidovorans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia fungorum* a *Burkholderia tropica*, které byly izolovány z nealkoholických nápojů dostupných na českém trhu vykazující senzorické změny.

Delftia acidovorans je bakterie rodu *Delftia*. Tento rod se vyznačuje rovnými až mírně zakřivenými tyčinkami, pohyblivými pomocí polárních nebo bipolárních bičíků. Jedná se o gram-negativní, kataláza a oxidáza pozitivní bakterie se striktně aerobním chemoorganotrofním metabolismem. *Delftia acidovorans* má růstové optimum při 30 °C, experimentálně bylo zjištěno, že buňky nejsou schopny růstu při teplotách nižších než 4 °C. Její výskyt byl zaznamenán především v půdě, sladké vodě, klinických materiálech (Wen a kol., 1999).

Rod *Pseudomonas* zahrnuje širokou škálu rozmanitých druhů a lze velmi těžce definovat celkovou společnou charakteristiku. Jedná se o striktně aerobní tyčinky s polárním bičíkem. *Pseudomonas fluorescens* se vyznačuje rovnými až mírně zakřivenými tyčinkami s několika bičíky. Klíčovými vlastnostmi k identifikaci jsou produkce fluoresceinu, a pozitivní katalázový a oxidázový test. Běžně se vyskytuje ve zkažených potravinách, především vejcích, mléce a rybách (Němec a kol., 2006). Produkuje bioaktivní sekundární metabolity a je schopna vytvářet biofilmy. V porovnání s *Pseudomonas aeruginosa* je tento druh méně toxický, avšak může vyvolat infekci při transfúzi kontaminovanou krví. Poslední studie poukazují na potencionální souvislosti s Crohnovou chorobou, kdy přibližně polovina pacientů s tímto onemocněním nevytváří protilátky proti *Pseudomonas fluorescens* (Brittan a kol., 2014).

Rod *Burkholderia* je skupina gramnegativních bakterií, které jsou morfologicky, metabolicky i co se týče výskytu velice rozmanité. (Sawana a kol., 2014; Yabuuchi a kol., 1992). *Burkholderia cepacia* patří do komplexu *Burkholderia cepacia* (BCC), který zahrnuje 17 příbuzných druhů. Tato bakterie je hlavní příčinou potencionálně smrtelných plicních infekcí u imunosupresivních jedinců, zejména u pacientů s cystickou fibrózou (Sawana a kol., 2014; Hauser a kol., 2011). *Burkholderia fungorum* má tvar rovné tyčinky a netvoří spory. Teplotní optimum pro růst je 30 °C. Byla izolována z hub, zvířat a lidských klinických vzorků (Coenye a kol., 2001). *Burkholderia tropica* tvoří mírně zakřivené tyčinky s jedním až čtyřmi polárními bičíky. Tvoří hladké vypouklé kolonie se žlutým středem a bílými okraji. Za mikro-aerobních podmínek fixují dusík. Optimální teplotou pro růst je 30 °C a růst stimuluje přítomnost cukrů a organických kyselin (Reis a kol., 2004).

METODIKA

K měření růstu bakterií byla zvolena denzitometrická metoda. Byl zjišťován růst bakterií v roztoku bujónu s přídavkem konzervačních látek, v roztoku ochucené vody s přídavkem konzervačních látek a v bujónu okyseleném na různé hodnoty pH.

Izolované bakterie byly uvedeny do vegetativního stavu a inokulovány do fyziologického roztoku. Bakteriální suspenze byla připravena podle zákalové stupnice McFarlanda na hodnotu 0,5 a byla použita pro inokulaci připravených roztoků bujónu a ochucené vody.

Příprava kultivačních médií

Bujón (s peptonem, kvasničným extraktem a glukosou)

Tekuté živné médium bylo připraveno rozpuštěním 5,0 g peptonu, 2,5 g kvasničného extraktu a 1,0 g glukosy v 1 litru destilované vody. Následně byl okyselen kyselinou citronovou. Z celkového objemu 1 litr byly do 100 ml laboratorních lahví připraveny čtyři zásobní roztoky s různými přídavky konzervačních látek (**tabulka 1**). Následně byly roztoky sterilovány v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut.

Tabulka 1: Příprava Bujónu II

	Roztok 1	Roztok 2	Roztok 3	Roztok 4
Bujón II [ml]	100	100	100	100
Sorban draselný [g]	x	0,0297	x	0,0249
Benzoan sodný [g]	x	x	0,0156	0,0149
pH	3,08	3,08	3,08	3,08

Ochucená voda balená

Pitná voda ochucená, pasterovaná, nesycená. Složení: voda, cukr, přírodní aroma (malinové, brusinkové), kyselina: kyselina citronová, aroma.

Toto médium bylo zvoleno s cílem simulovat chování izolovaných bakteriálních druhů v běžně dostupných nápojích na trhu. Nápoj, neobsahoval konzervační látky, vyjma kyseliny citronové, což ho činilo vhodným ke stanovení účinnosti testovaných konzervantů.

U zakoupeného produktu bylo měřením zjištěno pH=3. Do laboratorních lahví o objemu 250 ml byly připraveny roztoky této ochucené vody s přidavkem konzervačních látek dle následující **tabulky 2**. Následně byly roztoky sterilovány v autoklávu. Stejně jako je uvedeno u bujónu.

Tabulka 2: Příprava roztoků ochucené vody

	Roztok 1	Roztok 2	Roztok 3	Roztok 4
Ochucená voda	250	250	250	250
Sorban draselný [g]	x	0,0751	x	0,0627
Benzoan sodný [g]	x	x	0,0373	0,0374

Inokulace

Do sterilních PS zkumavek s uzávěrem bylo napipetováno vždy 5 ml jednotlivých zásobních roztoků (bez konzervantů, se sorbanem, s benzoanem, se sorbanem i benzoanem). U každé bakterie byly připraveny vždy dvě zkumavky od každého roztoku. Obsah zkumavek byl zaočkován 100 µl připravených suspenzí bakteriálních buněk ve fyziologickém roztoku.

Zjišťování účinnosti konzervačních látek

Připravené zaočkované zkumavky s roztoky bujónu a s roztoky ochucené vody byly v průběhu času proměřovány na denzitometru. Zpočátku dvakrát během dne, později byly časové intervaly mezi jednotlivým měřením delší. Data byla zaznamenávána a následně vyhodnocena v grafu.

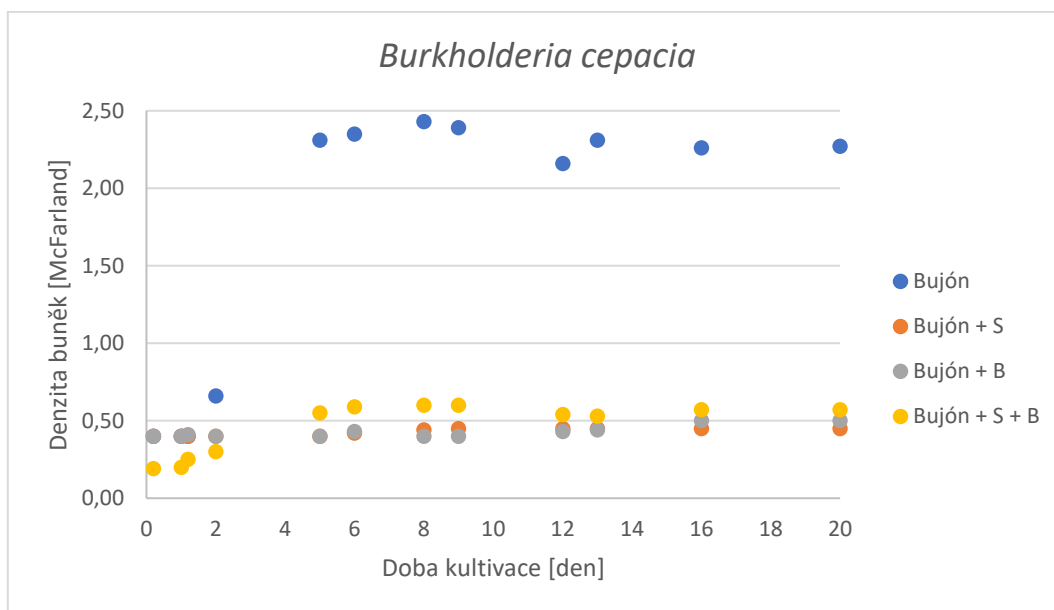
Zjišťování účinnosti pH

Pro zjištění vlivu pH na zkoumané bakterie byla připravena řada roztoků o pH 2, 3, 4, 5 a 6. Jako základ byl použit bujón, jehož pH bylo upraveno roztokem kyseliny citronové. Řada roztoků o různém pH byla sterilována v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut. Po inokulaci provedené analogicky jako u ostatních experimentů byl růst bakterií pozorován prostřednictvím měření optické denzity suspenzí buněk v průběhu času.

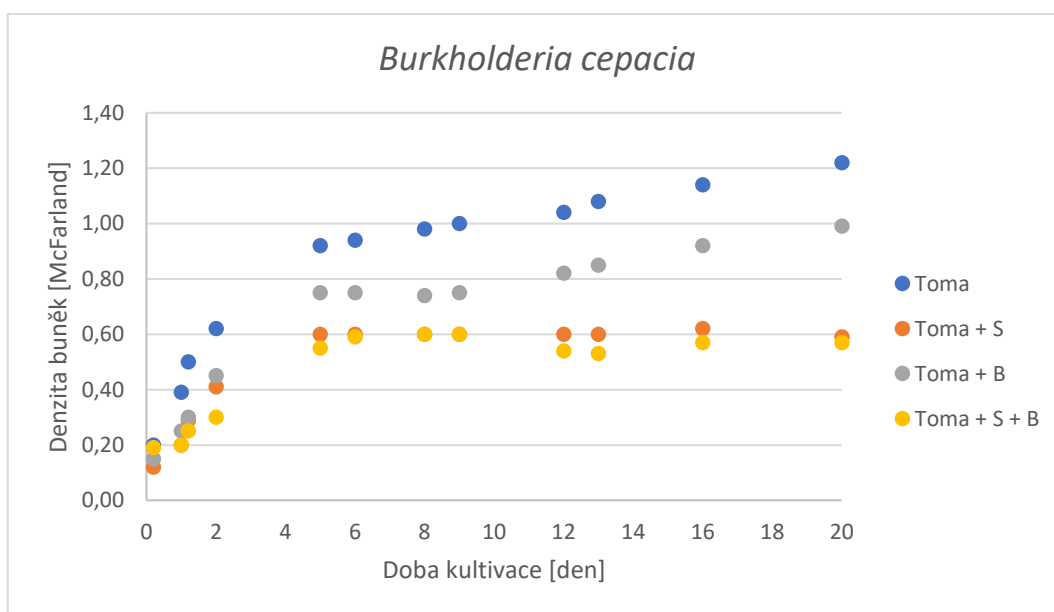
VÝSLEDKY

Naměřená data byla vynesena v následujících grafem.

Vliv konzervačních prostředků



Graf 1: Vliv konzervačních prostředků v prostředí modelového média na růst bakterií *Burkholderia cepacia*. (S – sorban draselný, B – benzoan sodný, S + B sorban + benzoan)



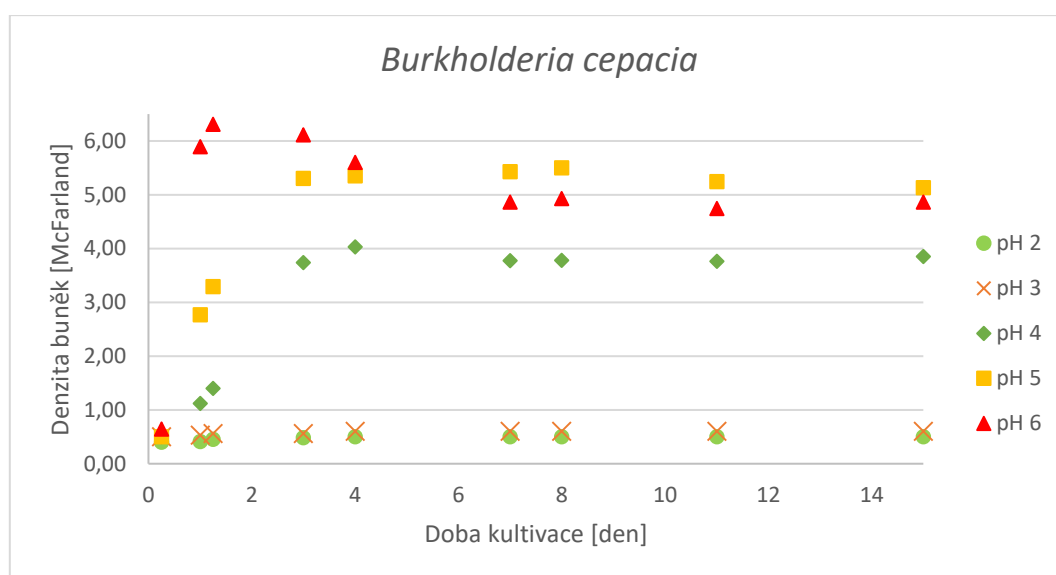
Graf 2: Vliv konzervačních prostředků v prostředí ochucené vody na růst bakterií *Burkholderia cepacia*.

Pro další dva zkoumané druhy rodu *Burkholderia* bylo pozorováno shodné chování. Z výše uvedených grafů je patrné, že u bakterií rodu *Burkholderia* v modelovém médiu, i přes okyselení na pH 3,08, dochází k výraznému nárůstu denzity buněk již po prvním dnu od zaočkování. Při použití sorbanu draselného, benzoanu sodného a jejich kombinace byl růst do značné míry omezen.

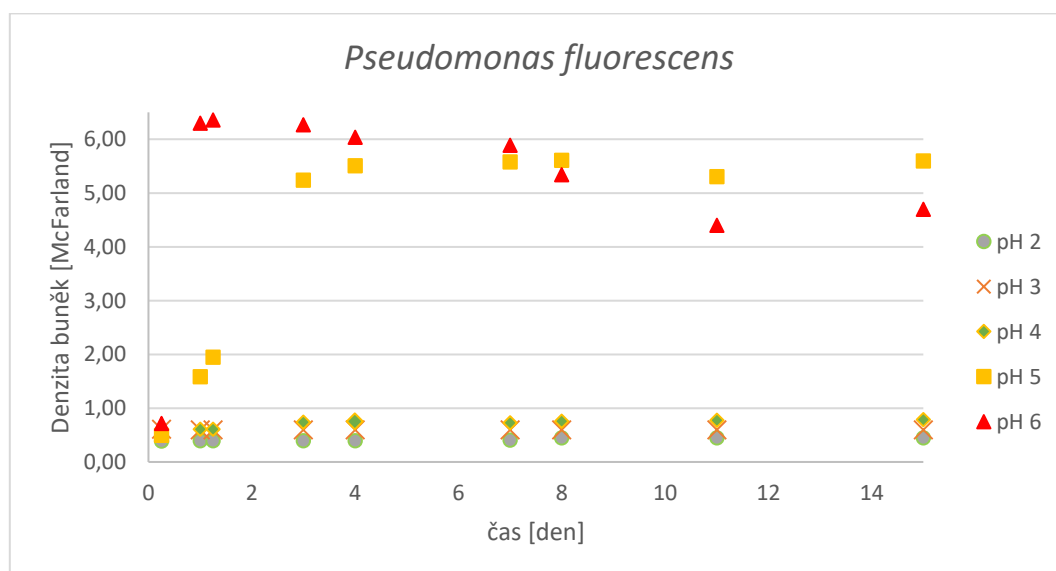
V roztocích ochucené vody byl pozorován obdobný jev s rozdílem, že nedošlo k tak intenzivnímu růstu buněk. To je způsobeno především nepřítomností některých živin. Také lze rozlišit účinnost jednotlivých konzervantů. Sorban a směs sorban + benzoan potlačovaly intenzitu projevu přibližně stejně. Benzoan potlačoval růst do cca dvanáctého dne, poté začíná křivka růstu bakterií kopírovat tvar růstové křivky u čisté vody.

U bakterií *Delftia acidovorans* a *Pseudomonas fluorescens* nedošlo ke zvyšování optické denzity ani v jednom z médií prakticky po celou dobu experimentu. Dá se předpokládat, že při tomto uspořádání chyběla některá z – pro tyto bakterie – životně potřebných látek, a tak nedošlo k rozvoji kontaminace těmito mikroorganismy. Růst bakterie *Delftia acidovorans* a *Pseudomonas fluorescens* byl navíc inhibován nízkým pH, a vliv konzervačních prostředků tedy nelze jednoznačně prokázat.

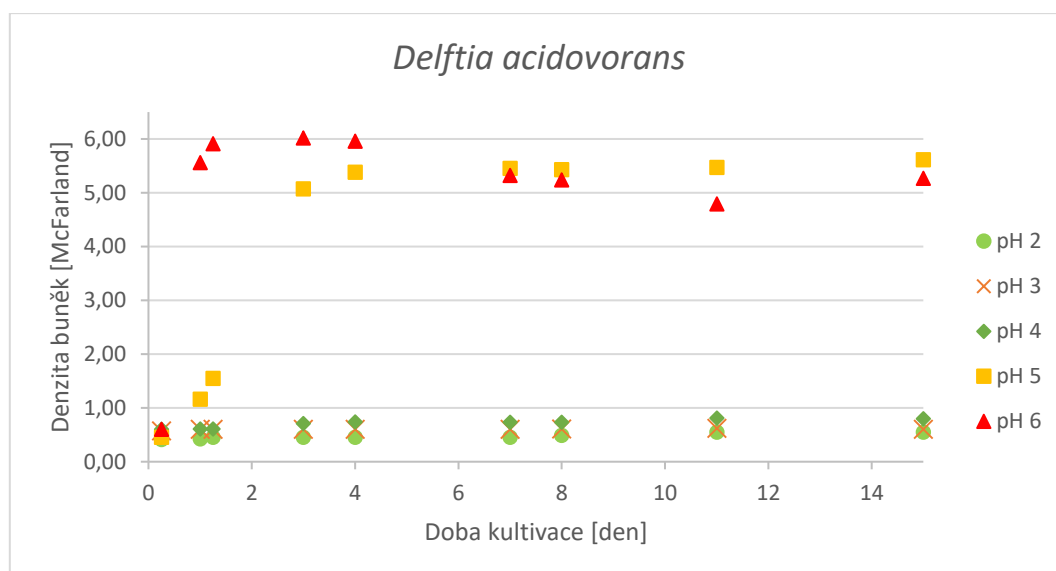
Vliv pH na růst bakterií



Graf 3: Vliv pH na růst bakterií *Burkholderia cepacia*.



Graf 4: Vliv pH na růst bakterií *Pseudomonas fluorescens*.



Graf 5: Vliv pH na růst bakterií *Delftia acidovorans*.

Graf 4 a **graf 5** demonstrují chování bakterií *Pseudomonas fluorescens* a *Delftia acidovorans* a potvrzují tak předpoklad, že v rozmezí pH 3-4 k růstu nedochází. Výraznější růst byl pozorován až při hodnotách pH 5 a 6.

Naopak bakterie rodu *Burkholderia* vykazovaly signifikantní nárůst již při pH 4. Tato schopnost adaptovat se na prostředí s nízkým pH je činí potencionálními kontaminanty většiny nesyčených nápojů.

U vyššího pH komplikoval měření optické hustoty vznik biofilmu, který i za pomoci vortexu šel velmi obtížně dezintegrovat. Ve výsledcích lze tento jev pozorovat jako kolísání až snižování denzity buněk v roztoku, neboť nedocházelo k úplné homogenizaci buněk v roztoku.

DISKUZE

Dle výzkumu Belova a kol. z roku 2005 byly bakterie rodu *Burkholderia*, schopné růstu v rozmezí pH 3,5-8,0, izolovány a identifikovány i v silně kyselých půdách (pH 2,9). Tato schopnost dobře odůvodňuje jejich růst v okyseleném médiu a ochucené vodě (viz **graf 1-2**). Optimální pH růstu těchto bakterií je v rozmezí 5,0-7,0. Snížením pH v růstovém médiu tedy nedošlo k úplné inhibici růstu, pouze k jeho zpomalení. Bakterie byly kultivovány při teplotě 30 °C, na které se soudobé publikace shodují, jakožto teplotním optimu. S výzkumem Belova a kol., rovněž koreluje **graf 3**, znázorňující růst bakterií rodu *Burkholderia* při různých hodnotách pH, z nichž je patrné, že nad pH 3 dochází k výrazně vyšší aktivitě.

Dle článku, který publikovali Sofos a Busta v roce 1981, účinky sorbanu se zvyšují se snižujícím se pH. Restaino a kol. uvádí, že inhibiční účinek konzervačních látek použitých ve výše uvedených experimentech je silně závislý na jejich koncentraci, pH média a druhu mikroorganismu. Dle výzkumu Stanojevice a kol. vykazuje sorban draselný a benzoan sodný prokazatelnou antimikrobiální aktivitu, přičemž nejúčinnější je jejich kombinace. Výzkum byl proveden na gram-negativních bakteriích, které byly

uchovávány při 27 °C. Podobné výsledky přinesl i experiment s bujónem a ochucenou vodou, kdy ve většině případů byla kombinace prostředků nejvíce efektivním způsobem inhibice růstu.

Tato práce tedy v tomto směru rozšiřuje výsledky výše uvedených studií zabývajících se přežitím zmíněných bakterií v půdě a přírodním prostředí na jejich schopnosti přežít v prostředí nesycených ochucených vod. Je naprosto zřejmé, že bakterie rodu *Burkholderia* prospívají při hodnotách pH vyšších, než 3 a tím ohrožují zdravotní nezávadnost a údržnost těchto výrobků. Výrobci často předpokládají, že pH 4 je dostatečné k potlačení růstu kazící mikrobioty, což ze sledovaných bakterií platí pro *Delftia acidovorans* a *Pseudomonas fluorescens*, pro rod *Burkholderia* však nikoli. Zároveň ale ukazuje cestu k potlačení „úspěchu“ těchto bakterií. Na základě této práce se ukázala jejich citlivost k sorbanu draselnému a kombinaci sorbanu draselného a benzoanu sodného. Nižší účinnost benzoanu sodného a jeho časově omezené působení mohou být předmětem následující studie.

ZÁVĚR

Výsledky této práce prokazatelně stanovily účinnost sorbanu draselného, benzoanu sodného, a především jejich kombinace vůči bakteriím rodu *Burkholderia*. Z naměřených dat vyplynula schopnost bakterií tohoto rodu v běžně prodávaných okyselených nápojích a použití testovaných konzervantů v limitech stanovených zákonem vede k prodloužení lag-fáze růstu mikroorganismů a tím prodloužení údržnosti takovýchto produktů. U ostatních zkoumaných bakterií (*Delftia acidovorans* a *Pseudomonas fluorescens*) se jako dostačující technologický zákrok prokázalo snížení pH pod hodnotu 4. Tento jev znemožnil stanovit účinnost konzervačních prostředků v ochucené vodě, jejíž pH nabývalo hodnoty 3. Není však na závadu, pokud pro potlačení růstu bakterií postačuje prosté snížení pH, je zbytečné - tam, kde například nehrozí kontaminace odolnějšími rody bakterií - zatěžovat organismus člověka dalšími přídatnými látkami.

Tato práce tedy inklinuje k použití konzervačních látek, aby se zajistila vyšší bakteriální bezpečnost produktů, které se dostávají ke spotřebitelům. Použití chemických konzervantů se setkává s kritikou soudobých výživových a výrobních trendů. Vzhledem k tomu, že u nesycených nápojů je použití oxidu uhličitého již z definice nepřipustné, nabízí se jako další alternativa větší snižování pH, to by ale vedlo k zhoršení chuti nápoje až k jeho nepitnosti.

- BACK, W. *Colour Atlas and Handbook of Beverage Biology*. Nürnberg, Germany: Fachverlag Hans Carl, 2006. 317 p. ISBN 3418007996.
- BRITTAN, S. S., et al. Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2014, vol. 27, no. 4, p. 927–948.
- COENYE, T., SEVERINE, L., WILLEMS, A., et al. *Burkholderia fungorum* sp. nov. and *Burkholderia caledonica* sp. nov., two new species isolated from the environment, animals and human clinical samples. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, vol. 51, p. 1099–1107.
- COENYE, T., VANDAMME, P. Diversity and significance of *Burkholderia* species occupying diverse ecological niches. *Environmental Microbiology*, 2003, vol. 5, p. 719–729. DOI: 10.1046/j.1462-2920.2003.00471.x.
- HAUSER, A. R., JAIN, M., BAR-MEIR, M., MCCOLLEY, S. A. Clinical significance of microbial infection and adaptation in cystic fibrosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2011, vol. 24, p. 29–70. DOI: 10.1128/CMR.00036-10.
- JUVONEN, R., VIRKAJARVI, V., PRIHA, O., LAITILA, A. *Microbiological spoilage and safety risks in non-beer beverages*. Finland: TECHNICAL RESEARCH CENTRE FINLAND, 2011. 119 p. VTT Research Notes, 2599. ISBN 978-951-38-7786-6.
- LAWLOR, K., SCHUMAN, J., SIMPSON, P., TAORMINA, J. Microbiological Spoilage of Beverages. In SPERBER, W. H., DOYLE, M. P. (ed.). *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. New York: Springer, 2009, p. 245–283. ISBN 978-1-4419-0825-4.
- NĚMEC, M., KOTOUČKOVÁ, L., PÁČOVÁ, Z. *Pseudomonas fluorescens*. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. 2006. Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/pseu.htm>.
- REIS, V. M., ESTRADA-DE LOS SANTOS, P., TENORIO-SALGADO, S., et al. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, vol. 54, p. 2155–2162. DOI: 10.1099/ij.s.0.02879-0.
- SAWANA, A., ADEOLU, M., GUPTA, R. S. Molecular signatures and phylogenomic analysis of the genus *Burkholderia*: proposal for division of this genus into the emended genus *Burkholderia* containing pathogenic organisms and a new genus *Paraburkholderia* gen. nov. harboring environmental species. *Front. Genet.*, 2014, vol. 5, p. 1–22. ISSN 10.3389/fgene.2014.00429.
- STRATFORD, M. Food and Beverages Spoilage Yeast. In QUEROL, H., FLEET, G. (ed.). *Yeast in Food and Beverages*. Germany: Springer-Verlag, 2006, vol. 2, p. 335–379. ISBN 3-540-28388-9.
- TRIBST, A. A., SANT'ANA ADE, S., DE MASSAGUER, P. R. Review: Microbiological quality and safety of fruit juices--past, present and future

perspectives. *Crit. Rev. Microbiol.*, 2009, vol. 35, p. 310–339. ISSN 1549-7828. DOI: 10.3109/10408410903241428.

YABUUCHI, E., KOSAKO, Y., OYAIZU, H., et al. Proposal of Burkholderia gen. nov. and transfer of seven species of the genus Pseudomonas homology group II to the new genus, with the type species Burkholderia cepacia (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiol. Immunol.*, 1992, vol. 36, p. 1251–1275. DOI: 10.1111/j.1348-0421.1992.tb02129.x.

WAREING, P. W. Microbiology of soft drinks and fruit juices. In ASHURST, P. R. (ed.). *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*. 3rd ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd., 2016, p. 290–309. ISBN 978-1-118-63494-3.

WEN, A., FEGAN, M., HAYWARD, Ch., CHAKRABORTY, S., SLY, L. I. Phylogenetic relationships among members of the Comamonadaceae, and description of Derftia acidovorans (den Dooren de Jong 1926 and Tarnaoka et al. 1987) gen. nov., comb. nov.. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1999, vol. 49, p. 567–576.

Kontakt: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D., VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin, Technické 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice, tel.: 220 443 004

Antimikrobiální a antioxidační vlastnosti extraktu konopí

Antimicrobial and antioxidant properties of hemp extract

Horsáková Iveta, Hořejší Daniela, Slánková Natálie, Kvasnička František

VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin

SOUHRN

Práce je zaměřena na prokázání antimikrobiální a antioxidační aktivity extrakty konopí. **Antimikrobiální účinky byly hodnoceny pomocí agarové jamkové difúzní metody na vybrané mikroorganismy. Antioxidační vlastnosti byly zjištěny spektrofotometricky metodami DPPH a FRAP.** Čistý kanabidiol vykazoval významné antibakteriální působení proti vybraným grampozitivním bakteriím a jisté antimikrobiální působení vůči kvasinkám. Naopak neměl vůbec žádné antimikrobiální účinky vůči gramnegativním bakteriím. Extrakty z konopí obecně vykazovaly antimikrobiální působení vůči G^+ bakteriím. Vůči G^- bakteriím není jejich působení zobecnitelné, *Pseudomonas fluorescens* na kanabinoidy (kromě výše zmíněného CBD) reagoval, naopak *Enterobacter cloacae* byl vůči působení konopných extraktů zcela imunní. Kvasinky vůči kanabinoidům citlivost vykazovaly, byť ne tak vysokou jako G^+ bakterie. Pro testování byly vybrány technologicky významné druhy mikroorganismů. Použitými spektrofotometrickými metodami pro určení antioxidačních vlastností bylo prokázáno, že čistý kanabidiol i konopné extrakty mají významné antioxidační účinky. Také bylo prokázáno, že antioxidační vlastnosti extraktů konopí významně korelují s obsahem polyfenolů. Těchto zjištění je potenciálně možné využít při konzervaci potravin.

Klíčová slova: konopí, kanabinoidy, kanabidiol, antimikrobiální, antioxidační

SUMMARY

The paper is focused on demonstrating of antimicrobial and antioxidant activities of hemp extracts. Antimicrobial effects were evaluated by agar well diffusion method on selected microorganisms. Antioxidant properties were determined spectrophotometrically by DPPH, FRAP, CUPRAC and ABTS methods. Pure cannabidiol showed significant antibacterial activity against gram positive bacteria and some antimicrobial activity against yeasts. On the contrary, it had non antimicrobial effects at gram-negative bacteria. Hemp extracts generally showed antimicrobial activity against G^+ bacteria. Their effect against G^- bacteria is not generalizable, *Pseudomonas fluorescens* showed sensitivity to cannabinoids (except for the above-mentioned CBD), on the contrary, *Enterobacter cloacae* was completely immune to hemp extracts. Yeasts showed susceptibility to cannabinoids, although it was not as significant as in case of G^+ bacteria. For testing were selected technologically important species of microorganisms. All spectrophotometric methods for determining antioxidant properties have shown that both pure cannabidiol and hemp extracts have significant antioxidant effects. It has also been shown that the antioxidant properties of cannabis extracts correlate significantly with the polyphenol content. These findings are potentially useful for food preservation.

Keywords: *hemp, cannabinoids, cannabidiol, antimicrobial, antioxidant*

ÚVOD

Konopí se již po tisíciletí používá v tradiční medicíně po celém světě. Nicméně všechny účinné složky a jejich mechanismy účinku nebyly ještě prozkoumány. Účinnost konopí je z větší části založená na kanabinoidních látkách, ale ne všechny kanabinoidy mají léčivé účinky [1]. V dnešní době se v klinické praxi konopí aplikuje při léčbě roztroušené sklerózy, epilepsie, artritidy, Tourettova syndromu, při nevolnosti a zvracení v důsledku chemoterapie, ke stimulaci chuti u nemocných HIV/AIDS, atd. [2]. Kanabinoid CBD se používá k léčbě celé řady nemocí a zdravotních stavů [3].

Užitečné antimikrobiální fytochemikálie identifikované v rostlinách konopí mohou být rozděleny do několika kategorií, jako jsou fenoly a polyfenoly, terpenoidy a esenciální oleje, kanabinoidy, alkaloidy, lektiny a polypeptidy a polyacetyleny. Fenoly a polyfenoly zahrnují jednoduché fenoly a fenolické kyseliny, chinony, flavony, flavonoidy, flavonoly, taniny a kumariny [4]. Extrakt z celé rostliny vykazuje výraznou antibakteriální aktivitu proti Gram pozitivním bakteriím, jak je *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus*. Projevuje vysokou aktivitu proti *Escherichia coli*. Je inaktivní proti bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, plísní *Aspergillus niger* a kvasince *Candida albicans* [5].

Jako účinné antimikrobiální látky se používají extrakty z konopí. Bylo zjištěno, že jednotlivé druhy rozpouštědel a časy extrakce mají vliv na antibakteriální a antifungální vlastnosti. Extrakty s nejdéle probíhající extrakcí (18 hodin) mají mnohem silnější antimikrobiální vlastnosti proti *S. aureus*, *P. aeruginosa* a *Candida albicans* oproti kratší extrakci. [6]

Rostliny a rostlinné materiály jsou také velmi důležitými zdroji antioxidantů. Jelikož se zvažuje použití rostlinných antioxidantů jako přídatných látek do potravin, věnuje se jim v posledních letech větší pozornost. Nejčastěji používané rostlinné antioxidanty v potravinářském průmyslu jsou sloučeniny odvozené od fenolu a jsou obecně známé jako polyfenoly. Antioxidační účinek těchto sloučenin je spojen s jejich chemickou strukturou a schopností delokalizovat elektrony přes aromatický kruh [7]. Příznivý vliv mnoha potravin a nápojů včetně ovoce, zeleniny, čaje, kávy a kakaa na lidské zdraví byl přisouzen právě antioxidační aktivitě. Antioxidační sloučeniny mohou vylučovat volné radikály a tím prodloužit skladovatelnost, jelikož se zpomalí proces peroxidace lipidů, což je jeden z hlavních důvodů kažení potravin během zpracování a skladování [8].

Pomocí cyklické voltametrie byly prokázáno, že CBD, THC a několik syntetických kanabinoidů jsou účinnými antioxidanty. Rovněž bylo prokázáno, že CBD a THC brání oxidačnímu poškození indukovanému hydroperoxydy, stejně nebo lépe než jiné antioxidanty [9]. Nedávné studie uvádějí, že konopné semeno bylo identifikováno jako cenná potravinová antioxidant s vlastnostmi [10]. Konopný olej vykazuje vynikající oxidační stabilitu, což naznačuje možnou přítomnost fenolových sloučenin, které působí

jako antioxidanty v oleji lisovaném za studena. Obsahuje také tokoferoly, které jsou specifickými antioxidanty [11].

Fenolové sloučeniny mají velký vliv na stabilitu, smyslové a nutriční charakteristiky produktu a mohou zabránit zhoršení kvality potlačením radikálových reakcí způsobujících oxidaci lipidů [12]. Na rozdíl od jiných kanabinoidů, CBD obsahuje dvě fenolické skupiny [13]. Kanabidiol více chrání organismus proti neurotoxické glutamátu než askorbát nebo α -tokoferol, což naznačuje, že je silným antioxidantem. V konopí se nachází hydroxyskořicové kyseliny, zejména kyselina ferulová a kyselina p-kumarová, které jsou známé pro své antioxidační a antimikrobiální vlastnosti a jsou používány jako konzervační látky potravin [14].

METODIKA

Měření antimikrobiálních vlastností konopných extraktů

Agarová jamková difúzní metoda

Z Petriho misky s namnoženými koloniemi mikroorganismu byla pomocí očkovací kličky odebrána jedna kolonie, která byla přenesena do zkumavky s fyziologickým roztokem. Suspenze daného mikroorganismu, která byla následně upravena na optickou hustotu 0,5 stupně McFarlanda. Obsah zkumavky byl přelit do skleněné láhve s vytemperovanou agarovou půdou. Láhev s půdou byla řádně promíchána, aby suspenze daného mikroorganismu byla v celém objemu homogenní a poté byla půda rozlita do předem připravených Petriho misek. Agar byl ponechán v Petriho miskách zatuhnout.

Po ztuhnutí půdy byly do nich korkovrtem o vnitřním průměru 6 mm vytvořeny jamky. Do těchto jamek byly následně pipetovány jednotlivé roztoky modelových vzorků M1 – M5. Jako kontrolní slepý vzorek byl do jamek aplikován také 80% methanol. Takto připravené Petriho misky s bakteriálními kulturami byly inkubovány při teplotě 30 °C po dobu 48±2 hodina. Petriho misky s kvasinkami byly inkubovány při teplotě 25 °C po dobu 96±2 hodin. Výsledné inhibiční zóny byly odečítány pomocí posuvného měřítka.

Měření antioxidačních vlastností konopných extraktů

Metoda DPPH

Byly připraveny kalibrační řady roztoků DPPH, kyseliny gallové a Troloxu rozpůštěním v 80 % methanolu.

Roztoky extraktů (M3, M4 a M5) musely být před analýzou přefiltrovány přes nylonový mikrofiltr o velikosti pórů 0,45 μ m. Roztoky vzorku M2 byly přefiltrovány přes PVDC mikrofiltr s velikostí pórů 0,22 μ m.

Měření probíhalo při vlnové délce 515 nm a interval odečtu absorbance byl 120 sekund. Pro měření byly použity kyvety s víčkem. Do takto připravené kyvety bylo napipetováno 0,1 ml antioxidantu (standard nebo vzorek) a k němu byly přidány 3 ml pracovního

roztoku DPPH. Kyveta byla rychle uzavřena víčkem, promíchána, umístěna do spektrofotometru a bylo spuštěno měření (proti vzduchu). Jako slepý vzorek byl použit 80 % methanol (0,1 ml) a pracovní roztok DPPH (3 ml) pracovního roztoku.

U barevných vzorků byla změřena barva roztoku při vlnové délce 515 nm, která přispívala ke zvýšení absorbance. Měření standardů i vzorků probíhalo až do ustálení absorbance. Doba ustálení se lišila v závislosti na síle a účinnosti antioxidantu.

V jednotlivých časech byly z naměřených absorbancí vypočteny % inhibice (% I) dle následujícího vztahu:

$$\% I = \frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{vzorek}}}{A_{\text{blank}} - A_{\text{rovnovážná}}} \cdot 100$$

Pro barevné vzorky platí vztah:

$$\% I = \frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{vzorek}} - A_{\text{barva}}}{A_{\text{blank}} - A_{\text{rovnovážná}}} \cdot 100$$

kde A_{blank} je absorbance slepého pokusu, A_{vzorek} je naměřená absorbance vzorku, A_{barva} je absorbance barevného roztoku a $A_{\text{rovnovážná}}$ je absorbance po vyčerpání veškerého DPPH.

Následně byly % inhibice dosazeny do rovnice regresní přímky kalibrační řady standardu (kyselina gallová a Trolox), tím byly získány mg ekvivalentu kyseliny gallové na litr (mg GAE.l-1) nebo mg ekvivalentu Troloxu na litr (mg TAE.l-1). Tyto hodnoty byly převedeny na mg GAE.g-1 nebo mg TAE.g-1 a vzorky byly mezi sebou porovnány.

Metoda FRAP

Jako standard byla použita kyselina gallová, Trolox a heptahydrát síranu železnatého. Kalibrační řady byly připraveny naředěním 80 % methanolem.

Pro metodu FRAP byly roztoky extraktů M1 až M5 před analýzou přefiltrovány stejně jako u předchozí metody.

Do kyvet byly napipetovány 3 ml reakční směsi s 50 μ l antioxidantu (standard nebo vzorek). Kyveta byla rychle uzavřena víčkem, promíchána, umístěna do spektrofotometru a měření probíhalo při vlnové délce 593 nm. Jako blank byla použita reakční směs (3 ml) a 80 % methanolu (50 μ l) (místo antioxidantu).

U barevných vzorků musela být změřena barva roztoku při vlnové délce 593 nm, která přispívala ke zvýšení absorbance. Měření standardů i vzorků probíhalo až do ustálení absorbance (proti vzduchu). Doba ustálení se lišila v závislosti na síle a účinnosti antioxidantu.

Na rozdíl od metody DPPH, zde docházelo k nárůstu absorpance. Rozdíl nárůstu absorpance před a po skončení reakce byl vypočten dle vztahu:

$$\Delta A = A_{\text{vzorek}} - A_{\text{blank}}$$

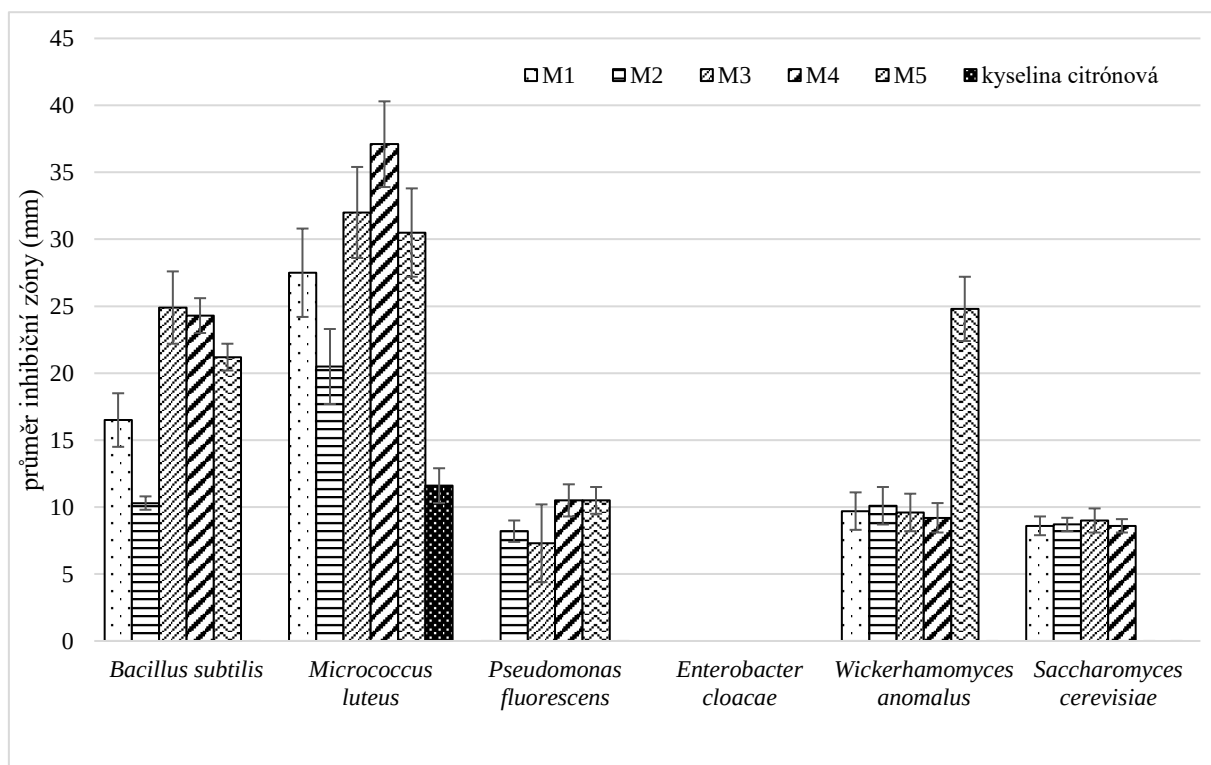
U barevných vzorků byla odečtena barva vzorku, která zvyšovala absorpaci, a to dle vztahu:

$$\Delta A = A_{\text{vzorek}} - A_{\text{blank}} - A_{\text{barva}}$$

Následně byly rozdíly absorpací (ΔA) dosazeny do rovnice regresní přímky kalibrační řady standardu (kyselina gallová, Trolox, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), tím byly získány mg ekvivalentu kyseliny gallové na litr (mgGAE.l-1), mg ekvivalentu Troloxu na litr (mgTAE.l-1) nebo mg Fe^{2+} na litr (mg Fe^{2+} .l-1). Tyto hodnoty byly převedeny na mg GAE.g-1, mg TAE.g-1 nebo mg Fe^{2+} .g-1 a vzorky byly mezi sebou porovnány.

VÝSLEDKY

Antimikrobiální vlastností konopných extraktů



Graf 1: Porovnání citlivosti mikroorganismů ke konopným extraktům pomocí agarové jamkové difuzní metody.

M1 - čisté CBD,

M2 - konopný olej s 5 % CBD,

M3 - konopný extrakt vyrobený superkritickou extrakcí,

M4 - konopný extrakt vyrobený superkritickou extrakcí s přidavkem čistého CBD (200 mg/l),

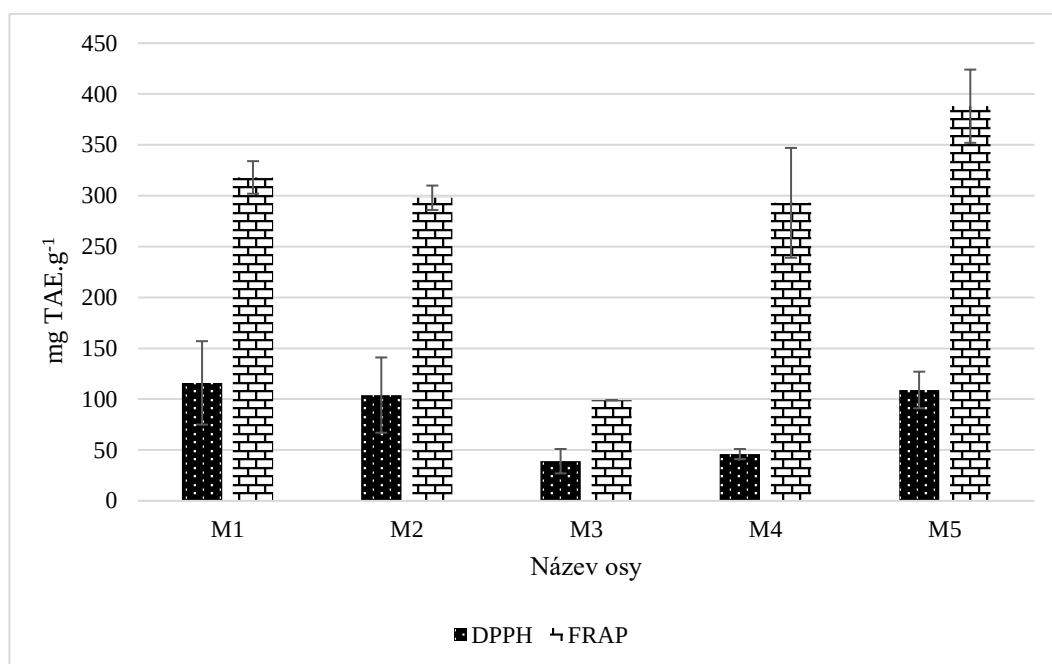
M5 - ethanolový extrakt připravený z technického konopí,

Z grafu 1 vyplývá, že konopné extrakty vykazují jisté antimikrobiální působení ke všem zkoumaným mikroorganismům s výjimkou *Enterobacter cloacae*. Nejcitlivějším mikroorganismem je *Micrococcus luteus*, byl značně citlivý na všechny testované vzorky a zároveň jako jediný i na kyselinu citronovou. Je-li mezi těmito skutečnostmi nějaký vztah je otázkou pro další výzkum. Významnou citlivost ke kannabinoidům vykazuje i *Bacillus subtilis*. Ve srovnání s těmito dvěma grampozitivními mikroorganismy vykazují gramnegativní *Pseudomonas fluorescens* a kvasinky *Wickerhamomyces anomalous* a *Saccharomyces cerevisiae* poněkud nižší citlivosti k daným extraktům, přičemž jak citlivosti mezi mikroorganismy, tak citlivost k jednotlivým extraktům pro jednotlivé MO jsou srovnatelné. Z tohoto výrazněji vyčnívá pouze necitlivost *Pseudomonas fluorescens* k čistému CBD a naopak zvýšená citlivost *Wickerhamomyces anomalous* ke vzorku M5. Zde extrakt z konopí buď obsahuje některou specifickou látku, kterou ostatní extrakty neobsahují, nebo se projevují synergické efekty kannabinoidů specificky právě vůči tomuto konkrétnímu mikroorganismu. Tímto lze vysvětlit i rozdíly v působení extraktů u ostatních mikroorganismů, u *Wickerhamomyces anomalous* je tento jev nejvýraznější. Právě necitlivost *Pseudomonas fluorescens* k roztoku čistého CBD může napovídat potřebu synergicky působících látek pro antimikrobiální působení konopných extraktů na některé mikroorganismy. Dalším vysvětlením může být, že antimikrobiální působení ostatních extraktů na *P. fluorescens* (a možná na více gramnegativních MO) je způsobeno výlučně ostatními složkami konopných extraktů.

Antioxidačních vlastností konopných extraktů

Tabulka 1: Hodnot naměřené antioxidační kapacity konopných extraktů metodami DPPH a FRAP

vzorek	DPPH		FRAP		
	mg GAE.g ⁻¹	mg TAE.g ⁻¹	mg GAE.g ⁻¹	mg TAE.g ⁻¹	mg Fe ²⁺ .g ⁻¹
M1	19±7	116±41	111±5	318±16	801±40
M2	17±6	104±37	103±4	298±12	748±28
M3	6±2	39±12	31±5	99±10	224±37
M4	7±1	46±5	102±18	293±54	736±132
M5	18±3	109±18	136±12	388±36	985±86



Graf 2.: Porovnání hodnot antioxidační kapacity měřené metodami DPPH a FRAP vyjádření v mg TAE.g⁻¹.

Antioxidační kapacita jednotlivých vzorků byla vyjádřena v mg GAE.l⁻¹, mg TAE.l⁻¹ a v mg Fe²⁺.l⁻¹ které byly následně převedeny na mg GAE.g⁻¹, mg TAE.g⁻¹ a na mg Fe²⁺.g⁻¹ (tabulka 1). Z grafu 2 je patrné, že nejsilnějším antioxidantem, který zároveň i rychle reaguje je vzorek M5. Vzorek M4 má při obou použitých metodách DPPH i FRAP vyšší antioxidační kapacitu než vzorek M3 – vyplývající z grafu. Antioxidační kapacita vzorku M4 je sice vyšší než M3, ale ne o tolik, co odpovídá přídatku CBD. Vzorek M1 má vyšší antioxidační kapacitu než vzorky M2, M3 i M4. Je vidět, že přidavek čistého CBD k superkritickému extraktu nemá synergický efekt, spíše naopak, matrice v superkritickém extraktu potlačuje antioxidační kapacitu čistého CBD. Jelikož je kyselina gallová silným antioxidantem jsou hodnoty mg GAE.g⁻¹ nižší v porovnání mg TAE.g⁻¹ nebo mg Fe²⁺.g⁻¹.

ZÁVĚR

- Čistý kanabidiol vykazuje významné antibakteriální působení proti grampozitivním bakteriím a jisté antimikrobiální působení vůči kvasinkám. Naopak nemá vůbec žádné antimikrobiální účinky vůči gramnegativním bakteriím.
- Extrakty z konopí obecně vykazují antimikrobiální působení vůči G⁺ bakteriím. Vůči G⁻ není jejich působení zobecnitelné, *Pseudomonas fluorescens* na

kanabinoidy (kromě výše zmíněného CBD) reaguje, naopak *Enterobacter cloacae* je vůči působení konopných extraktů zcela imunní. Kvasinky vůči kanabinoidům citlivost vykazují, byť ne tak vysokou jako G^+ bakterie.

- Výsledky práce naznačují, že antibakteriální působení je, zejména, ale nejen u G^- bakterií, zapříčiněno buď synergickými efekty ostatních látek, nebo působením jiných látek, než je CBD.
- Použitými spektrofotometrickými metodami pro určení antioxidačních vlastností bylo prokázáno, že čistý kanabidiol i konopné extrakty mají významné antioxidační účinky.
- Čistý kanabidiol a extrakty konopí jsou účinnými antioxidanty. Oproti kyselině gallové nebo Troloxu reagují pomalu, což je výhodné pro lidské tělo, jelikož se dostanou do všech tkání a potenciálně vychytají více volných radikálů.
- Ani jednou z metod nebyl prokázán synergický efekt mezi kanabidiolem a maticí extraktu, účinek byl antagonický.
- Vzhledem k prokázaným antimikrobiálním a antioxidačním účinkům extraktu konopí, je možné použití těchto extraktů při konzervaci potravin. Jelikož jsou kanabinoidy lipofilními antioxidanty, je nutné zvolit takové potraviny, které obsahují dostatek tuku, aby mohly být kanabinoidy rozpuštěny.

Literatura:

1. Nuutinen, T., *Medicinal properties of terpenes found in Cannabis sativa and Humulus lupulus*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2018. **157**: p. 198-228.
2. Citti, C., et al., *Pharmaceutical and biomedical analysis of cannabinoids: A critical review*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018. **147**: p. 565-579.
3. Hazekamp, A., *The Trouble with CBD Oil*. Medical Cannabis and Cannabinoids, 2018. **1**: p. 65-72.
4. Khan, B.A., P. Warner, and H. Wang, *Antibacterial Properties of Hemp and Other Natural Fibre Plants: A Review*. BioResources, 2014. **9**(2): p. 3642-3659.
5. Ali, E.M.M., et al., *Antimicrobial Activity of Cannabis sativa; L*. Chinese Medicine, 2012. **Vol.03No.01**: p. 4.
6. Mkpenie, V., E. Essien, and I. I Udoh, *Effect of extraction conditions on total polyphenol contents, antioxidant and antimicrobial activities of Cannabis sativa L*. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 2012. **11**(4): p. 300-307.
7. Litescu, S.C., S. Eremia, and G.L. Radu, *Methods for the Determination of Antioxidant Capacity in Food and Raw Materials*, in *Bio-Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors*, M.T. Giardi, G. Rea, and B. Berra, Editors. 2010, Springer US: Boston, MA. p. 241-249.
8. Gülçin, İ., *Antioxidant activity of food constituents: an overview*. Archives of Toxicology, 2012. **86**(3): p. 345-391.

9. Hampson, A.J., et al., *Cannabidiol and (-)Δ(9)-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998. **95**(14): p. 8268-8273.
10. Hong, S., et al., *Ethanol and supercritical fluid extracts of hemp seed (Cannabis sativa L.) increase gene expression of antioxidant enzymes in HepG2 cells*. Asian Pacific Journal of Reproduction, 2015. **4**(2): p. 147-152.
11. Smeriglio, A., et al., *Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cold-Pressed Seed Oil from Finola Cultivar of Cannabis sativa L.* Phytotherapy Research, 2016. **30**(8): p. 1298-1307.
12. Siger, A., M. Nogala-Kalucka, and E. Lampart-Szczapa, *THE CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PHENOLIC COMPOUNDS IN COLD-PRESSED PLANT OILS*. Journal of Food Lipids, 2008. **15**(2): p. 137-149.
13. Borges, R.S. and A.B.F. da Silva, *Chapter e12 - Cannabidiol as an Antioxidant A2 - Preedy, V.R.* in *Handbook of Cannabis and Related Pathologies*. 2017, Academic Press: San Diego. p. e122-e130.
14. Candy, L., et al., *Thermo-mechano-chemical extraction of hydroxycinnamic acids from industrial hemp by-products using a twin-screw extruder*. Industrial Crops and Products, 2017. **109**(Supplement C): p. 335-345.

Kontakt: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D., VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin, Technické 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice, tel.: 220 443 004

Možnosti rozlišení medového vína od dezertní medoviny

Possibilities to distinguish honey wine from dessert mead

Kružík V., Grégrová A., Vaispacherová L., Škorpilová T., Čížková H.

Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická
3, 166 28 Praha 6 - Dejvice

ABSTRAKT

Medovina je tradiční alkoholický nápoj s typickou chutí a vůní, který je vyráběn převážně z medu a vody. Často je přidáváno také koření, bylinné či ovocné extrakty. Složení medoviny je nejvíce závislé na množství medu, ale významné jsou i další přidané suroviny nebo podmínky výroby. Cílem této studie bylo zhodnotit chemické složení 17 vzorků medovin pocházejících z České republiky. Soubor vzorků obsahoval medová vína (vyrobená pouze z vody a medu) a dezertní medoviny, které jsou upraveny především přídavkem cukru nebo lihu. Mezi vzorky byly zařazeny medoviny vyrobené za studena a také medoviny připravené zahříváním medového roztoku. Analyzovány byly následující chemické parametry: ethanol, bezcukerný extrakt, hydroxymethylfurfural, sacharidy, asimilovatelný dusík, polyfenoly a kyselina citronová. Uvedené parametry se lišily v závislosti na druhu medoviny a použitém technologickém postupu výroby.

Klíčová slova: medovina, medové víno, sacharidy, hydroxymethylfurfural, kyselina citronová, polyfenoly, dusík

ABSTRACT

Mead is a traditional alcoholic beverage with a typical taste and aroma, which is mainly made of honey and water. Spices, herbal and fruit extracts are often added. The composition of mead is most dependent on the amount of honey, but other added raw materials or production conditions are also important. The aim of this study was to evaluate the chemical composition of 17 mead samples originating in the Czech Republic. The sample set consisted of honey wines (made only from water and honey) and dessert mead, which are mainly treated by the addition of sugar or alcohol. The sample set consisted of cold mead and mead prepared by heating the honey solution. The following chemical parameters were analyzed: ethanol, sugar-free extract, hydroxymethylfurfural, carbohydrates, assimilable nitrogen, polyphenols and citric acid. These parameters varied depending on the type of mead and the technological process used.

Keywords: mead, honey wine, carbohydrates, hydroxymethylfurfural, citric acid, polyphenols, nitrogen

ÚVOD

Medovina patří mezi poměrně málo časté alkoholické nápoje. Základními surovinami pro výrobu medoviny patří med a voda, přidat lze koření, chmel nebo ovocné šťávy. Od konce roku 2018 došlo k významným legislativním změnám v označování medovin (Vyhláška 248/2018 Sb.). Tato vyhláška nově rozlišuje tradičně vyrobenou medovinu (medové víno) od medovin s přidaným lihem či cukrem (dezertní medovina). Medové víno vyžaduje min. 11 % alkoholu, nepožaduje minimální obsah cukru a minimální množství použitého medu. Do medového vína nesmí být přidáván další líh, cukr, aroma nebo barviva. Naopak dezertní medovina může obsahovat přidaný cukr, víno, líh, aroma či barviva. U dezertní medoviny vznikla nově povinná kategorizace podle přidané složky („s přídavkem lihu“; „s přídavkem cukru“ apod.).

Pro posouzení kvality medovin nevznikly žádné nové hodnotící parametry, proto je stále legislativní ošetření kvality nedostatečné. Z chemických požadavků je definován pouze minimální obsah ethanolu (11 % pro medové víno, 10 % pro dezertní medovinu), nejvyšší obsah těkavých kyselin (obě skupiny 1,6 g/l) a minimální bezcukerný extrakt pro medové víno (20 g/l). Pro dezertní medovinu je dále definováno minimální množství použitého medu (280 g/l medoviny). Cílem této práce je zhodnotit kvalitu medovin dostupných na českém trhu a určit parametry, které mohou být užitečné pro rozlišení medového vína od medoviny dezertní.

MATERIÁL A METODY

Celkem bylo analyzováno 17 vzorků medovin pocházejících z ČR (zakoupeny v kamenných prodejnách). Zastoupena byla jednak medová vína (11 vzorků) a medoviny dezertní (6 vzorků). Většina medovin (10 vzorků) byla připravena „za tepla“ tj. vařením medového roztoku, ostatní vzorky byly připraveny tzv. „za studena“.

Pro stanovení obsahu hydroxymethylfurfuralu (HMF) a sacharidů byly použity standardní metody pro med (Bogdanov, 2002). Obsah asimilovatelného dusíku byl stanoven formaldehydovou metodou (Aerny, 1996). Celkový obsah polyfenolů byl stanoven metodou podle Folin-Ciocalteu (Singleton a kol., 1999). Obsah kyseliny citronové byl zjištěn pomocí kapalinové chromatografie s DAD detektorem (ČSN EN 12630). Obsah ethanolu byl stanoven pyknometrickou metodou (OIV, 2009) a bezcukerný extrakt výpočtem podle Nařízení (EHS) č. 2676/90.

VÝSLEDKY

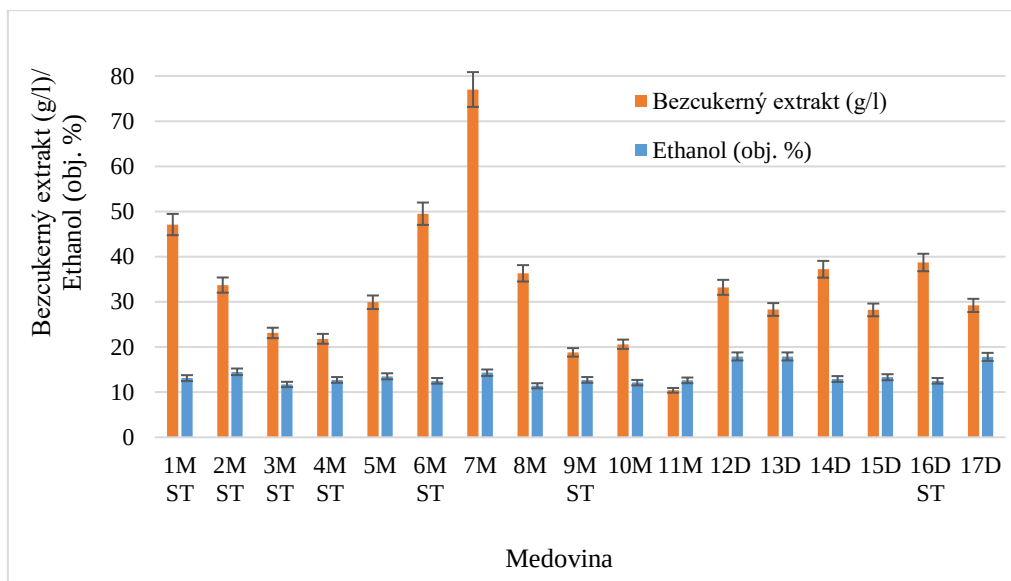
Mezi základní legislativní parametry medovin patří obsah ethanolu a minimálního bezcukerného extraktu. Minimální obsah ethanolu splňovaly všechny analyzované vzorky, průměrný obsah ethanolu medových vín byl 12,8 obj. % (Obr. 1). Dezertní medoviny byly typické vyšším obsahem ethanolu (až 17,9 obj. %). Zjištěné koncentrace ethanolu odpovídají publikovaným studiím, nejčastěji je uváděn obsah ethanolu

v medových vínech v rozmezí 12,7 – 15,0 obj. % (Ukpabi, 2006; Vidrih a Hribar, 2007). Minimální bezcukerný extrakt nesplňovala medová vína 9M a 11M (Obr. 1), naopak nejvyšší množství (77,0 g/l) obsahoval vzorek 7M. Obsah bezcukerného extraktu závisí u medových vín na množství použitého medu, v případě dezertních medovin je jeho obsah ovlivněn přidavkem kyselin či barviv (Zoecklein a kol., 1995).

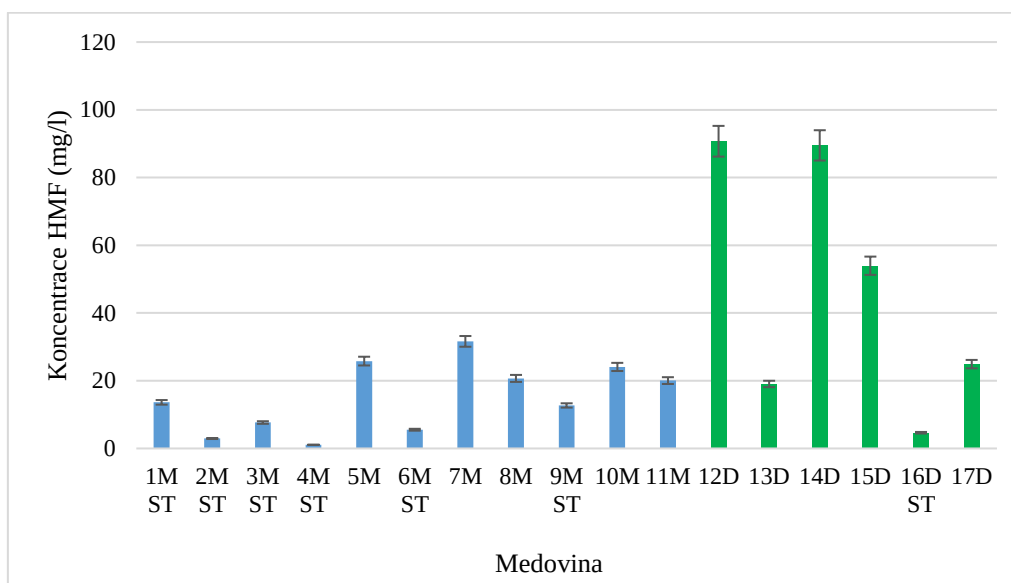
Obsah HMF v medu patří mezi významné kvalitativní parametry. Pro obsah HMF v medovinách není v české legislativě uveden žádný limit. Pokud bychom však vycházeli z maximálního limitu definovaného pro med (40 mg/kg), tak bychom v případě kvalitní receptury (0,4 kg medu na litr medoviny) měli stanovit obsah HMF do 16 mg/l. Hlavní význam má samotná technologie výroby, pro medoviny připravené za tepla lze očekávat nárůst obsahu HMF. U dezertních medovin dochází ke zvýšení obsahu HMF v důsledku přidání přírodních sladidel nebo barviv.

Obsah HMF u analyzovaných medovin je uveden na obr. 2. Nejnižší hodnoty HMF měly vzorky medových vín připravené studenou cestou (průměrně 7 mg/l), které splňovaly předpokládaný limit HMF. Ostatní vzorky medovin (tj. připravené vařením medového roztoku) obsahovaly významně vyšší obsah HMF (průměrně 40 mg/l). Většina dezertních medovin (vzorky 12D - 17D), která jsou upravována přidavkem cukru, lihu apod., vykazovala vysoký obsah HMF (vzorek 12D až 91 mg/l). V případě medových vín byl obsah HMF v intervalu od 1 do 32 mg/l, zatímco u dezertních medovin byly koncentrace od 5 do 91 mg/l. Podobné hodnoty pro medoviny (3 – 158 mg/l) stanovil Kahoun a kol. (2017). Obsah HMF odpovídá intenzitě záhřevu medového roztoku, kvalitě medu a podmínkám skladování medoviny (Kahoun a kol., 2017; Švecová a kol., 2015). Kahoun a kol. (2017) prokázal, že použití teploty do 80 °C po dobu 60 min při přípravě medového roztoku způsobí pouze nepatrný nárůst obsahu HMF (10 %). Vyšší teploty způsobí významnější nárůst (90 °C – o 36 %, 100 °C – o 93 %). Zároveň bylo zjištěno, že skladování při pokojové teplotě po dobu 12 týdnů způsobí 46% nárůst obsahu HMF (Kahoun a kol., 2017).

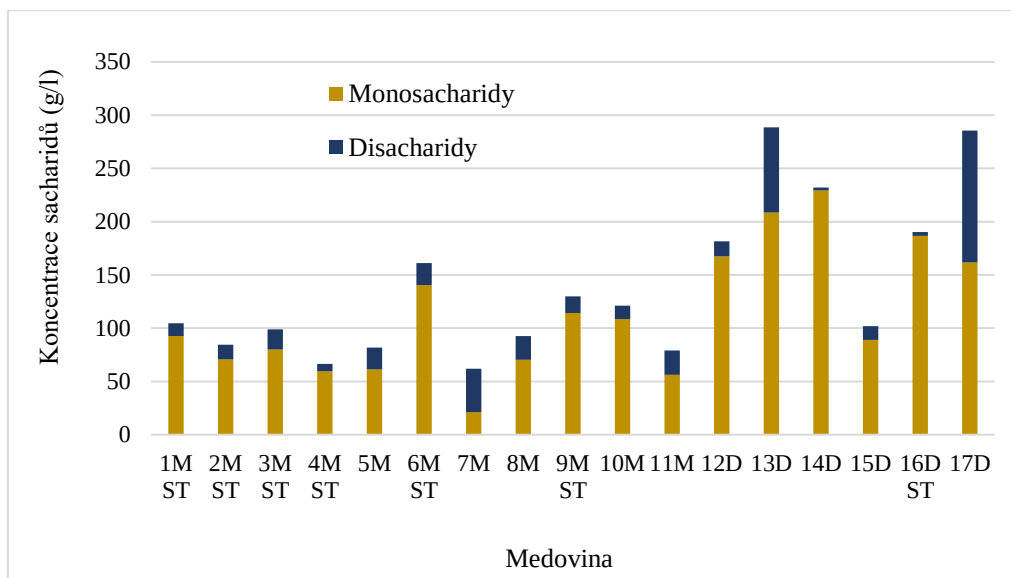
Během kvašení medoviny dochází ke snižování obsahu sacharidů, které jsou přeměňovány na ethanol a oxid uhličitý. Sacharidový profil v medovině se oproti medu značně liší (Švecová a kol., 2015). Obsah sacharidů pro jednotlivé vzorky je uveden na obr. 3. Velké rozdíly v obsahu sacharidů vykazovala medová vína oproti dezertním medovinám. Skupina nepřislazovaných medových vín obsahovala průměrný celkový obsah sacharidů 98 g/l. Naopak u dezertních medovin dosahuje průměrný celkový obsah sacharidů 213 g/l (vzorek 13D až 290 g/l) a je možné pozorovat významný přírůstek disacharidů (především sacharosy) až 100 g/l. Poměr monosacharidů a disacharidů byl u vzorků značně odlišný. Podle Švecové a kol. (2015) by měly méně sladké medoviny obsahovat sacharidů 40 – 100 g/l a naopak ve sladkých medovinách může být až 200 g/l. Podle Juričové a kol. (2018) je průměrný obsah sacharidů v českých medovinách 97 g/l.



Obr. 1 Obsah bezcukerného extraktu a ethanolu ve vzorcích medovin. Vzorky 1-11 jsou medová vína (M) a vzorky 12-17 jsou medoviny dezertní (D). ST - příprava za studena.



Obr. 2 Koncentrace HMF ve vzorcích medovin. Vzorky 1-11 jsou medová vína (M) a vzorky 12-17 jsou medoviny dezertní (D). ST - příprava za studena.



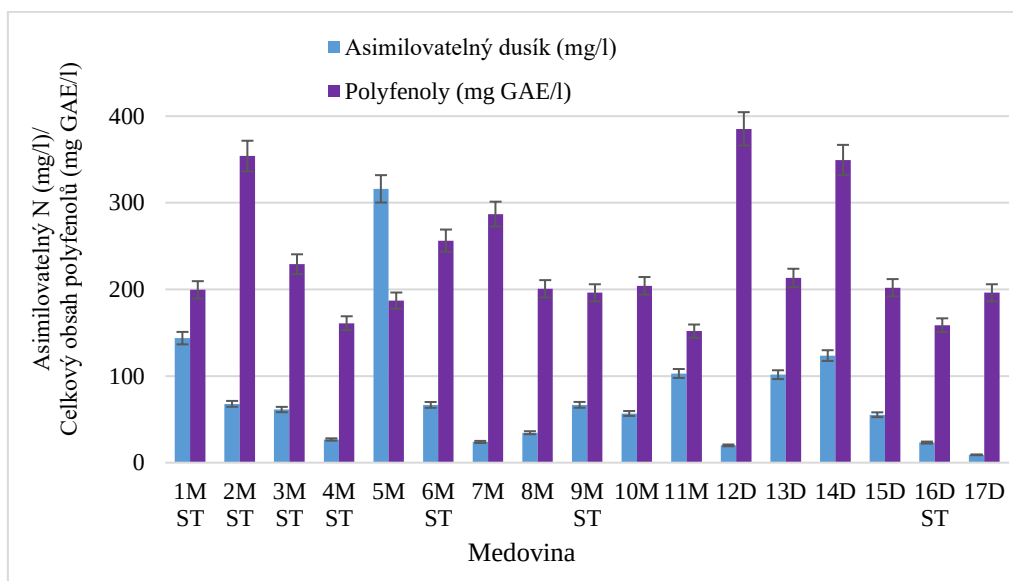
Obr. 3 Koncentrace sacharidů (suma monosacharidů: glukosa, fruktosa, suma disacharidů: sacharosa, maltosa) v analyzovaných medovinách. Vzorky 1-11 jsou medová vína (M) a vzorky 12-17 jsou medoviny dezertní (D). ST - příprava za studena.

Obsah asimilovatelného dusíku je významný parametr ovlivňující vlastní proces kvašení. Při výrobě medoviny jsou přidávány zdroje dusíku, takže receptura hraje významnou roli (Mendes-Ferreira a kol., 2011). Velmi nízký obsah asimilovatelného dusíku měla dezertní medovina 17D (< 10 mg/l), naopak nejvyšší obsah mělo medové víno 5M (Obr. 4). U medovin vyrobených pouze z medu ovlivňuje obsah asimilovatelného dusíku přídavek pylu (pyl obsažený v medu) (Mendes-Ferreira a kol., 2011; Roldán a kol., 2011). Při výrobě medoviny dochází k významnému naředění medu a obsah asimilovatelného dusíku se tedy snižuje. Konečný obsah asimilovatelného dusíku v medovině tedy pravděpodobně více závisí na přidaných živinách (Mendes-Ferreira a kol., 2010).

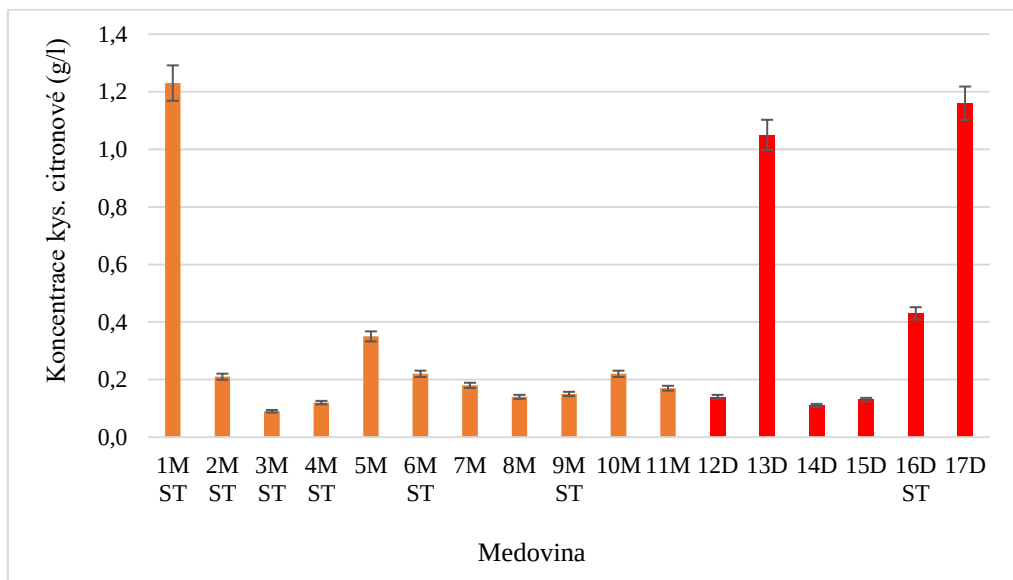
Celkový obsah polyfenolů je závislý na druhu použitého medu. Větší obsah polyfenolických sloučenin obsahují medovicové medy (Švecová a kol., 2015). Průměrný obsah polyfenolů byl 230 mg GAE/l (GAE, ekvivalent kyseliny gallové) (Obr. 4). Medová vína a dezertní medoviny měly podobný průměrný obsah polyfenolů (220 vs. 251 mg GAE/l). Dle dostupných studií se celkový obsah polyfenolů v medovinách vyskytuje od 116 až 240 mg/l (Šmogrovičová a kol., 2012, Wintersteen a kol., 2005).

Obsah kyseliny citronové byl mezi jednotlivými vzorky značně variabilní (0,1 – 1,2 g/l) (Obr. 5). U vzorku 1M výrobce nedeklaruje přídavek kyseliny citronové, ale jeho obsah byl nejvyšší (1,2 g/l). Je pravděpodobné, že byla kyselina citronová přidána do tohoto medového vína během výroby. U vzorků 13D, 16D a 17D (dezertní medoviny) výrobce deklaroval přídavek kyseliny citronové, který byl stanoven v rozmezí 0,4 – 1,1 g/l. Kyselina citronová je často přidávána pro zlepšení chuti do různých potravin. Podle literárních zdrojů je obsah kyseliny citronové v českých medovinách 0,1 – 3,1 g/l (Švecová a kol., 2015). Kyselina citronová, jablečná nebo vinná se používají na úpravu

pH medového roztoku (Pereira a kol., 2017). Během kvašení už nedochází k výrazným změnám v obsahu kyseliny citronové (Sroka a Tuszyński, 2007).



Obr. 4 Celkový obsah polyfenolů (mg GAE/l) a asimilovatelného dusíku v analyzovaných medovinách. Vzorky 1-11 jsou medová vína (M) a vzorky 12-17 jsou medoviny dezertní (D). ST - příprava za studena.



Obr. 5 Obsah kyseliny citronové v analyzovaných medovinách. Vzorky 1-11 jsou medová vína (M) a vzorky 12-17 jsou medoviny dezertní (D). ST - příprava za studena.

ZÁVĚR

Studie byla zaměřena na hodnocení vybraných kvalitativních znaků medovin od různých producentů z České republiky. Zajímavým parametrem pro hodnocení medovin je obsah sacharidů. Dezertní medoviny obsahovaly výrazně vyšší obsah sacharidů díky výraznému doslazování oproti medovým vínům. Významný rozdíl mezi diskutovanými skupinami byl pozorován také v obsahu HMF, dezertní medoviny byly typické až 3x vyšším obsahem (HMF až 90 mg/l). Obsah asimilovatelného dusíku pravděpodobně závisí na množství přidaných živin. V celkovém obsahu polyfenolů nebyly pozorovány rozdíly. Na základě měřených parametrů nebylo možné odhadnout množství medu použitého při výrobě. Vhodné by bylo rozšířit spektrum měření o analýzu oligosacharidů, aminokyselin, organických kyselin či pylovou analýzu.

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 21-SVV/2019).

POUŽITÁ LITERATURA

Aerny J. 1996. Composés azotes des moûts et des vins, Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic., 28: 161–165.

Bogdanov S. 2002. Harmonised methods of the International Honey Commission.

ČSN EN 1133. Ovocné a zeleninové šťávy, Stanovení formolového čísla.

ČSN EN 12630. Ovocné a zeleninové šťávy, Stanovení obsahu glukózy, fruktózy, sorbitolu a sacharózy, Metoda využívající HPLC.

Juričová M., Soňa Ř., Kamila M., Jan F., Lenka C. 2018. Determination of 5-Hydroxymethylfurfural and Saccharides in Mead, Kvasný průmysl, 64: 65-70.

Kahoun D., Řezková S., Královský J. 2017. Effect of heat treatment and storage conditions on mead composition, Food Chemistry, 219: 357-63.

Mendes-Ferreira A., Barbosa C., Lage P., Mendes-Faia A. 2011. The impact of nitrogen on yeast fermentation and wine quality, Ciência Téc. Vitiv., 26: 17-32

Mendes-Ferreira A., Cosme F., Barbosa C., Falco V., Inês A., Mendes-Faia A. 2010. Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production, International Journal of Food Microbiology, 144: 193-98.

Nařízení komise (EHS) č. 2676/90, kterým se stanoví metody Společenství používané pro rozbor vín, 192-383.

OIV. Compendium of International Analysis of Methods. 2009. Method OIV-MA-AS312-01B.

Pereira A. P., Oliveira J. M., Mendes-Ferreira A., Estevinho L. M., Mendes-Faia A. 2017. 14 - Mead and Other Fermented Beverages, in Ashok Pandey, Maria Ángeles Sanromán, Guocheng Du, Carlos Ricardo Soccol and Claude-Gilles Dussap (eds.), *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (Elsevier).

Roldán A., G. C. J. van Muiswinkel, Lasanta C., Palacios V., Caro I. 2011. Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics, *Food Chemistry*, 126: 574-82.

Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Oxidants and Antioxidants, Part A*, 299: 152–178.

Sroka P., Tuszyński T. 2007. Changes in organic acid contents during mead wort fermentation, *Food Chemistry*, 104: 1250-57.

Šmogrovičová D., Nádaský P., Lich R. T., Wilhelmi B., Cambray G. 2012. Analytical and Aroma Profiles of Slovak and South African Meads, *Czech Journal of Food Sciences*, 30: 241-246.

Švecová B., Bordovská M., Kalvachová D., Hájek T. 2015. Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content, *Journal of Food Composition and Analysis*, 38: 80-88.

Ukpabi U. J. 2006. Quality evaluation of meads produced with cassava (*Manihot esculenta*) floral honey under farm conditions in Nigeria, *Trop. Subtrop. Agroecosyst.*, 6: 37–41.

Vidrih R., Hribar J. 2007. Studies on the sensory properties of mead and the formation of aroma compounds related to the type of honey. *Acta Aliment.*, 36: 151–162.

Vyhláška č. 248/2018 Sb. Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. Česká republika: Sbírka zákonů ČR.

Wintersteen C. L., Andrae L. M., Engeseth N. 2005. Effect of heat treatment on antioxidant capacity and flavor volatiles of mead, *Food Chemistry and Toxicology*, 70: C119-126.

Zoecklein B. W., Fugelsang K. C., Gump B. B., Nury F. S. 1995. *Wine analysis and production*, Springer – Science, Business Media.

KONTAKTNÍ ADRESA: kruzikv@vscht.cz

Falšování citronových šťáv

Adulteration of lemon juices

Podskalská, T.; Říhová, K.; Škorpilová, T.; Kružík, V.; Čížková, H.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Souhrn

Přestože výrobce deklaruje svůj výrobek jako 100% ovocnou šťávu, ať už se jedná o šťávu přímou či z koncentráту, ve skutečnosti o 100% ovocnou šťávu jít nemusí. Důvodem je ekonomicky motivovaný podvod zahrnující například ředění ovocné šťávy vodou, přidavek cukru, okyselení, obohacení vitamíny nebo přídavky levnějšího druhu ovoce. Vzhledem k snadnému provedení a velkým objemům výroby patří ovocné šťávy do skupiny velmi často falšovaných potravin. Cílem práce bylo testování 10 výrobků deklarovaných jako 100% citronové šťávy, porovnání a kritické zhodnocení naměřených dat s referenční směrnicí pro citronovou šťávu, údaje v odborné literatuře a získanými výsledky tří vylisovaných šťáv z různých odrůd citrónů.

Abstract

Although producers declare their product as 100% fruit juice, whether it's straight juice or from concentrate, in fact, it isn't 100% fruit juice. The reason is economically motivated deception, which including for example, diluting fruit juice with water, adding sugar, acidifying, fortifying with vitamins or adding cheaper species of fruit. Due to easy of adulteration and large production volumes, fruit juices belong to the group of the very often adulterated foodstuffs. The aim of the work was to test 10 products declared as 100% lemon juices, to compare and critically evaluate the measured data with the reference guideline for lemon juice, data in the literature and results obtained for three pressed juices from different varieties of lemon.

Klíčová slova: *falšování, citrónové šťávy, autenticita*

Úvod

Podle definice směrnice ES se citronová šťáva získává ze zralého a zdravého ovoce mechanickými procesy a je ošetřena pouze fyzikálními prostředky. Citronová šťáva je pro spotřebitele dostupná v různých formách - vedle 100% citronové šťávy se v tržní síti můžeme setkat s nektarem (min. 25 % ovoce) nebo tzv. citrónkami, což jsou nápojové koncentráty, které vedle nižšího nebo vyššího podílu citronové šťávy (0,5 až 25 %) obsahují obvykle i kyselinu citronovou, antioxidanty a konzervační látky. S ohledem na svoji vysokou kyselost (cca 50 g kyseliny citronové/litr; pH 2,5) je citronová šťáva jen zřídka konzumována přímo, a slouží převážně jako okyselovací a ochucovací přípravek při průmyslové výrobě potravin i přípravě pokrmů a konzervaci potravin v domácnostech

(např. nápoje, džemy, želé, omáčky, marinády, zmrzliny, sladké pečivo, zeleninové a ovocné saláty). (COP, (AIJN), 2011; NCL, 2012; E. González-Molina et al., 2010)

Citrón (*Citrus limon*) je bohatý na mnoho důležitých přírodních složek – fenolické sloučeniny (zejména flavonoidy), vitaminy, minerály, vlákninu, éterické oleje a karotenoidy). Pro jejich roli v prevenci nemocí (obezita, diabetes, vysoká hladina lipidů v krvi, kardiovaskulární onemocnění a některé typy rakoviny) je citronová šťáva důležitou součástí vyvážené stravy. Nejvýznamnější účinek se připisuje bioaktivním sloučeninám (kyselině askorbové a flavonoidům) a jejich přirozeným antioxidačním vlastnostem. Hlavními flavanoidy jsou hesperidin, který je přítomen i v dalším citrusovém ovoci, a eriocitrin, jenž je obsažen v citrónech i limetkách. (González-Molina et al., 2010; S. Koswig, 2006)

Falšování ovocných šťáv a nápojů je vážným ekonomickým problémem, kterému čelí spotřebitel a potravinářský průmysl po mnoho let. Pokročilo to od jednoduchého zředění vodou a nahrazení levných ingrediencí po vysoce sofistikované manipulace určené k maskování procesu falšování. Mezi hlavní problémy falšování, s nimiž se dozorové orgány potýkají, patří nedeklarovaný přídavek cukru a pulp-wash, míchání různých šťáv a přidávání barviv, aminokyselin a organických kyselin (Widmer et al., 1992). Jedním z možných nepovolených příměsí do citronové šťávy může být šťáva z limetek. Profily polymethoxyflavonů a polyfenolů citrónu a limetek jsou značně odlišné, což umožňuje identifikaci náhrady a/nebo přídavku limetek do citronových šťáv (Jahromi et al., 2015; S. Koswig, 2006). Dalším úkolem kontroly je zjištění zeměpisného původu šťávy (je-li deklarován) a výrobních podmínek při samotném zpracování. Přestože bylo vyvinuto mnoho metod pro detekci falšování šťáv, ukázalo se, že jen omezený počet je použitelný při prevenci sofistikovaného falšování – např. izotopová analýza (2H - a 13C -IRMS), HPLC. V tabulce I. jsou uvedeny vybrané markery. (COP, AIJN, 2011; Widmer et al., 1992; Jahromi et al., 2015; NCL, 2012).

Tab. I – Referenční hodnoty vybraných markerů pro autentické citronové šťávy v porovnání s nevyhovujícími vzorky (COP, AIJN, 2011; NCL, 2012)

markery	jednotky	rozmezí hodnot	
		COP (šťáva z koncentrátu/přímá)	NCL (šťáva z koncentrátu)
refraktometrická sušina	Brix	min. 7/8	4,5 – 7,7
titrační kyselost	g CA/l	44,8 – 62,0	34,7 – 48,9
formolové číslo	ml 0,1 M NaOH/100 g	13 – 26	1,6 – 4,5
kyselina citronová (CA)	g/l	45 – 63	31,3 – 46,2
sacharosa	g/l	max. 7,0	< 2
glukosa	g/l	3 – 12	0,6 – 2,3
fruktosa	g/l	3 – 11	0,5 – 1,4
poměr glukosa/fruktosa	-	0,95 – 1,3	1,2 – 1,3
kyselina d-isocitronová (ICA)	mg/l	230 – 500	28,7 – 116,6
poměr CA/ICA	-	max. 200	269 – 1555
flavanoidní glykosidy (Hesperidin)	mg/l	max. 1500 (200 - 800)	21,4 – 117
delta ¹³ C cukr	‰ pdb	-27 – -24	-26,4 – -12
delta D voda	‰ smow	min. 15	-56 – -32

tučně vyznačené hodnoty - nevyhovující (na hraně) referenční směrnice COP

Společnost Eurofins v roce 2012 pro Národní spotřebitelskou ligu (NCL) identifikovala 4 značky označené jako „100% šťávy“ (z koncentrátu), které byly silně naředěny vodou (nad rámec toho, co je nezbytné k rekonstituci výrobku). V některých případech byly k vyrovnání chuti přidány cukry a kyselina citronová (viz Tab. I). (Jahromi et al., 2015; NCL, 2012).

Materiál a metodika

Posouzení autenticity 10 vzorků deklarovaných jako 100% citronové šťávy na základě měření vybraných markerů:

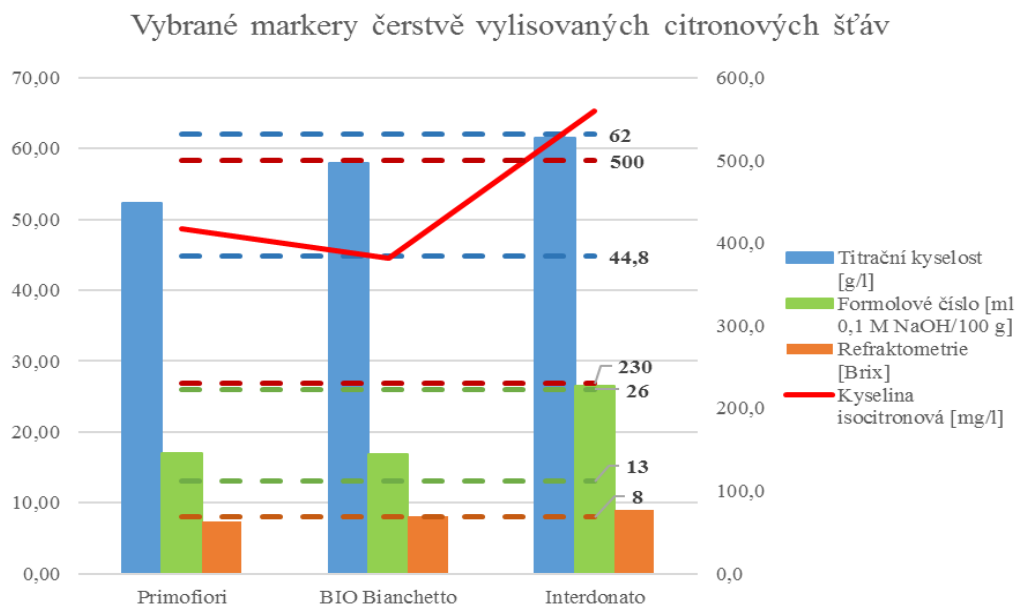
- obsah organických kyselin (citronová a L-jablečná) a cukrů (glukosy, fruktosy a sacharosy) - pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC)
- přítomnost sorbitolu – HPLC
 - obsah cukrů + sorbitol – typ kolony: Shodex SUGAR SC1011 (300 mm × 8,0 mm I.D), MF: H₂O přefiltrovaná a odplyněná, 1 ml/min, 80 °C, 20 µl
 - obsah kyselin – typ kolony: dvojité kolony Kinetex C18 100 A (250 mm × 4,6 mm), MF: 0,02 M KH₂PO₄ o pH 2,5 (upraveno kyselinou fosforečnou), 0,7 ml/min, 25 °C, 20 µl
- refraktometrická sušina (ČSN EN 12143) – refraktometr
- hustota – z důvodu nedostatku vzorku stanovení pomocí 10 ml pipety

- kyseliny D-isocitronové – s použitím enzymového setu od firmy Megazyme (K-ISOC 02/16)
- titrační kyselost (TK, ČSN EN 12147) a formolové číslo (FČ, ČSN EN 1133) – prostřednictvím automatického titrátoru (Mettler Toledo) a pro ověření FČ - manuální titrací

Zbývající parametry uvedené v Tab. II byly stanoveny v laboratoři Eurofins CZ, s.r.o.

Z 10 analyzovaných vzorků citronových šťáv byly dvě označeny jako přímá šťáva a osm jako šťáva z koncentráту. Ve složení se některé od sebe značně lišily. Mimo citronovou šťávu obsahovaly pitnou vodu, kyselinu citronovou (E 330), esenciální citronový olej. Jako antioxidanty a konzervační látky byly v některých případech použity kyselina L-askorbová a siričitany (E 224). Vybrané parametry (uvedené v Grafu 1) byly analyzovány i u vzorků laboratorně vylisovaných šťáv zakoupených citrónů (v lokálním obchodě) tří různých odrůd – Primofiori (Španělsko), BIO Bianchetto (Španělsko, Itálie) a Interdonato (Turecko).

Výsledky



Graf 1 - Naměřené hodnoty čerstvě vylisovaných šťáv z tří různých druhů citrónů

Tab. II - Naměřené hodnoty u citrónových šťáv

marker	jednotky	citrónové šťávy		
		rozmezí hodnot (n = 10)**	průměr (n = 9)*	RSD [%] (n = 9)*
refraktometrická sušina	Brix	8,5 – 9,5	8,5	2,8
relativní hustota	-	1,012 – 1,022	1,018	0,3
titrační kyselost	g CA /l	38,3 – 55,1	45,4	11,5
formolové číslo	ml 0,1 M NaOH/100 g	16 – 24	20	13,5
popel	g/l	2,8 – 3,9	3,1	11,8
fosfor	mg/l	75 – 149	93	8,0
draslík	mg/l	1420 – 1750	1548	6,9
hořčík	mg/l	49 – 89	78	11,8
vápník	mg/l	57 – 168	123	32,3
kyselina citronová (CA)	g/l	36 – 49	41	10,5
kyselina jablečná	g/l	0,1 – 3,5	2,1	39,5
sacharosa	g/l	0,6 – 1,7	0,8	39,3
glukosa	g/l	7 – 13	9,4	12,5
fruktosa	g/l	7 – 13	9,5	13,4
sorbitol	g/l	< 0,03	-	-
kyselina D-isocitronová (ICA)	mg/l	10 - 371	282	17,1
poměr CA/ICA	-	131 – 4 762	148	12,9
poměr glukosa/fruktosa	-	0,97 – 1,04	0,99	2,8
ovocný podíl	g/100 g	68,8 – 104,5	96,1	20,0

* z vypočtených hodnot průměru a RSD byly vyloučeny naměřené hodnoty pro vzorek 1

** tučně vyznačené hodnoty - nevyhovující (na hraně) referenční směrnice COP

Závěr

Z naměřených dat vyplývá, že většina vzorků splnila referenční směrnici a je možné po započtení nejistoty měření a odhadu ovocného podílu považovat za 100% citrónové šťávy. Bylo však nalezeno několik výjimek, z nichž nejvýznamněji se od všech výrobků odlišoval vzorek č. 1. Vykazoval atypické složení a celkově nízký ovocný podíl (68,8 %). Například obsah kyseliny L-jablečné – 0,1 g/l, kyseliny d-isocitronové – 10 mg/l a poměr CA/ICA byl vysoce nad limit 200. Z COP a literárních zdrojů vyplývá, že vzorek 1 byl pravděpodobně zředěn vodou a pro vyrovnání chuti byl přidán cukr v podobě nejspíše glukózo-fruktózového sirupu. Na rozdíl od naměřených hodnot tří různých odrůd citrónů se koncentrace kyseliny d-isocitronové pohybovala u spodní hranice referenční směrnice COP. Podobně na tom byly nálezy kyseliny citronové.

Z časových důvodů nebyly stanoveny další markery pro šťávy z tří odrůd citrónů. Do budoucna je tedy v plánu rozšířit naměřené množství markerů (zvláště kys. citrónové a jablečné) těchto šťáv.

Literatura

Code of practice (COP) for evaluation of fruit and vegetable juices; (Reference guidelines, revize 2011),. A.I.J.N; Belgium

https://www.nclnet.org/watered_down_lemon_juice , 2012

E. González-Molina et al., Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 51, 2010, 327 – 345 s.

W. W. Widmer et al., Methods for determining the adulteration of citrus juices, Trends in Food Science & Technology, (Vol. 3), 1992, 9 s.

R. Jahromi et al.; Recent development to detect lemon juice adulteration, Eurofins Nutrition Analysis Center, Annual AOAC meeting, 2015, poster

S. Koswig, Determination of foreign fruit types and fruit varieties – analyses, evaluation and practical problems, Fruit Processing 6, 2006, 401 – 407 s.

Kontaktní adresa

Ing. Tereza Podskalská, VŠCHT Praha,

Fakulta potravinářské a biochemické technologie,

Ústav konzervace potravin, Technická 3, Praha 6 - Dejvice, 166 28,

Tel: +420 220 443 246, email: podskalt@vscht.cz

Hodnocení kvality zelených čajů dostupných na českém trhu

Evaluation of the quality of green teas available on the Czech market

Ladislava Rýdlová, Marina Konsuo, Magdaléna Hrubá, Jan Pivoňka, Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Souhrn

Zelený čaj je populární nápoj, konzumovaný celosvětově velkým množstvím spotřebitelů a jeho složení se může lišit v závislosti na mnoha faktorech. Kvalita čaje a analýza složek čaje je komplexním problémem. Zelený čaj obsahuje velké množství polyfenolových sloučenin a methylxanthiny, jako jsou kofein a theobromin, které byly vybrány jako parametry pro hodnocení kvality zelených čajů dostupných na českém trhu. Spektrofotometricky byl změřen obsah celkových polyfenolů a metodou HPLC/DAD obsah kofeinu a theobrominu. Naměřená data byla statisticky zpracována shlukovou a PCA analýzou. Výsledky umožnily rozdělení vzorků zelených čajů do skupin podle kvality.

Summary

Green tea is a popular beverage, consumed worldwide by a large number of consumers and its composition may vary depending on many factors. Tea quality and analysis of tea is a complex problem. Green tea contains a large number of polyphenolic compounds and methylxanthines such as caffeine and theobromine, which have been selected as parameters for evaluation of the quality of green teas available on the Czech market. The content of total polyphenols was measured spectrophotometrically and the content of caffeine and theobromine was measured by HPLC/ DAD. The measured data were statistically processed by cluster and PCA analysis. The measured data allowed the differentiation of green tea samples into groups according to their quality.

Klíčová slova: *zelený čaj, kvalita, HPLC/DAD, polyfenolové sloučeniny, statistická analýza*

Úvod do problematiky

Čaj je vedle vody nejkonzumovanějším nápojem na světě. Je získáván z listů rostliny *Camellia sinensis* v přibližně 30 různých zemích [1]. Byl po staletí používán starověkými kulturami pro své léčivé vlastnosti a je konzumovaný v nefermentovaných (zelený čaj), částečně fermentovaných (oolong čaj) a fermentovaných (černý, pu-erh nebo červený čaj) formách [2]. Jeho popularita pravděpodobně souvisí s jeho senzorickými vlastnostmi, relativně nízkou maloobchodní cenou, stimulačními účinky a potenciálními přínosy pro zdraví. Obsahuje několik bioaktivních látek, u kterých se věří, že mají širokou škálu

fyziologických vlastností, včetně stimulujících, antidepresivních, protizánětlivých, antioxidačních, antisklerotických, antihypertenzních, protiinfekčních, antimutagenních, antikarcinogenních, antimikrobiálních, hypolipidemických, neuroprotektivních a antidiabetických. Dále pak i zlepšení imunitní odpovědi, jak je uvedeno v několika studiích [3-5].

Zelený čaj je nefermentovaný čaj, který je nejen celosvětově oblíbeným nápojem, ale je také považován za nutraceutikum, jako neuroprotektivní, kardioprotektivní a antikarcinogenní látka a ve srovnání s jinými formami čaje je bohatší na antioxidanty [6, 7]. Jeho zpracování zahrnuje sklizeň, posklizňové rozložení, fixaci, tvarování a sušení, při kterém vznikají nové těkavé látky. Během zpracování a skladování zeleného čaje dochází k různým biochemickým změnám [8, 9]. Endogenní enzymy, polyfenoloxidázy a peroxidázy v listech jsou deaktivovány napařováním (pokud jde o japonský styl) nebo na působením teploty (pokud jde o čínský styl). Zelený čaj obsahuje mnoho nutričních složek, jako jsou vitamíny, minerální látky, bílkoviny, aminokyseliny, sacharid, lipidy, polyfenoly a flavanoidy, pigmenty, těkavé sloučeniny a stopové prvky, včetně éterických olejů, riboflavinu, niacinu, kyseliny listové, kyseliny askorbové, kyseliny pantothenové, kyselina jablečná a šťavelové [10]. Složení zeleného čaje je velmi podobné složení čerstvému čaji s výjimkou několika enzymaticky katalyzovaných změn, ke kterým dochází velmi rychle po utrnutí listu [9]. Protože se jedná o nefermentovaný čaj je ve srovnání s jinými formami čaje bohatší na antioxidanty, mezi které patří polyfenoly a další látky [11]. Čajový list je bohatý na skupinu flavanolových polyfenolů, známých jako katechiny, které mohou tvořit až 30 % hmotnosti suchých listů. Mezi další polyfenoly patří flavonoly a jejich glykosidy a depsidy, jako je kyselina chlorogenová, kyselina kumarylchinová a jeden unikátní pro čaj, theogallin. Hlavními nalezenými polyfenoly jsou flavanoly, (-)-epigallokatechin-3-gallát (EGCG), (-)-epigallokatechin (EGC), (-)-epikatechin-3-gallát (ECG) a (-)-epikatechin (EC), kde EGCG je převládající katechin a je všeobecně přijímán díky svým vysokým hladinám jako hlavní antioxidant v zeleném čaji [2, 12]. Kofein je přítomen v průměrné hladině 3 %, spolu s velmi malými množstvími dalších běžných methylxanthinů, theobrominu a theofylinu, přispívají ke stimulačním vlastnostem zeleného čaje [2, 12].

Nutriční hodnota čaje vyplývá většinou z polyfenolů čaje, o nichž se uvádí, že mají široké spektrum biologických aktivit [13]. Přesné složení různých zelených čajů se může lišit v závislosti na mnoha faktorech, jako je zeměpisná poloha, podmínky pěstování, rozdíly mezi varietami *Camelia sinensis* a metody posklizňového zpracování [14]. Kvalita čaje a analýza složek čaje je komplexní problém kvůli přítomnosti velkého množství sloučenin a jejich obtížně předvídatelnému mechanismu reakce, ale také proto, že četné vnitrostátní a mezinárodní orgány stanovují svá vlastní kritéria pro atributy kvality [15].

Experimentální část

Bylo shromážděno 22 vzorků zelených čajů různých výrobců, které byly zakoupeny na českém trhu, 19 vzorků bylo sáčkových (G1-G19) a 3 čaje byly sypané (T1-T3), zakoupené ve speciálním obchodu s čaji.

Vzorky čajů byly nejprve rozemlety na analytickém mlýnku. V případě sáčkových čajů byl vždy rozemlet obsah minimálně 5 sáčků pro zajištění reprezentativního a homogenního vzorku. Tyto vzorky byly skladovány v dobře uzavřených plastových vzorkovnicích a byly chráněny před světlem.

Stanovení obsahu celkových polyfenolů v čaji - Kolorimetrická metoda za použití Folin-Ciocalteuova činidla [16]

Rozemletý vzorek ($0,200 \pm 0,001$) g byl přímo navážen do plastové zkumavky vhodné pro použití v odstředivce. Do zkumavky bylo přidáno 5 ml směsi methanol/voda 70:30 o teplotě 70 °C, a vzorek byl promíchán na laboratorní míchačce Vortex. Vzorky ve zkumavkách byly dále zahřívány ve vodní lázni nastavené na teplotu 70 °C a zamíchány po 5 a 10 minutách pro zajištění dobré extrakce. Zkumavky se vzorky byly poté vyjmuty z vodní lázně, ponechány zchladnout na pokojovou teplotu a odstředěny na odstředivce při 3500 otáček/min po dobu 10 minut. Poté byl supernatant opatrně převeden do zkumavky se stupnicí a extrakční kroky byly opakovány. Extrakty byly poté spojeny, doplněny na 10 ml směsi methanol/voda 70:30. Poté byl vždy 1 ml extraktu pipetován do 100 ml odměrné baňky a doplněny vodou po rysku.

Pro přípravu kalibrační řady byly připraveny standardní vodné roztoky kyseliny gallové o koncentracích 10, 20, 30, 40 a 50 mg/l.

Do každé zkumavky byl napipetován 1 ml standardního roztoku kyseliny gallové, 1 ml vody (blank) nebo 1 ml zředěného extraktu čaje. Poté bylo do každé zkumavky přidáno 5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a směs byla zamíchána. Dále byly během 3-8 min po přidání Folin-Ciocalteuova přidáno do každé zkumavky 4 ml 7,5% uhličitanu sodného a výsledná směs byla zamíchána. Vzorky byly ponechány při pokojové teplotě po dobu 60 min ve tmě a poté byla na spektrofotometru (Specol 2000 UV/VIS) měřena absorbance při 765 nm v kyvetě ($l=10$ mm). Všechny vzorky byly připraveny v duplikátech.

Stanovení obsahu kofeinu a theobrominu (HPLC/ DAD)

Do 100 ml odměrné baňky bylo naváženo 2,5 g vzorku rozemletého čaje a baňka byla doplněna po rysku horkou destilovanou vodou a ponecháno extrahovat 30 minut. Dále byly 2 ml tohoto extraktu napipetovány do 10 ml odměrné baňky a doplněny po rysku destilovanou vodou. Vzorek byl poté přefiltrován stříkačkovým mikrofiltrem (nylon; 0,45 μ m) do vialky. Pro stanovení obsahu kofeinu a theobrominu byly změřeny obě ředění každého vzorku a každý vzorek byl připraven v paralelním provedení.

Byly připravena také kalibrační řada směsného standardu kofeinu (200, 10, 50, 20, 10 a 5 mg/l) a theobrominu (100, 50, 25, 10, 5 a 2,5 mg/l).

Parametry metody:

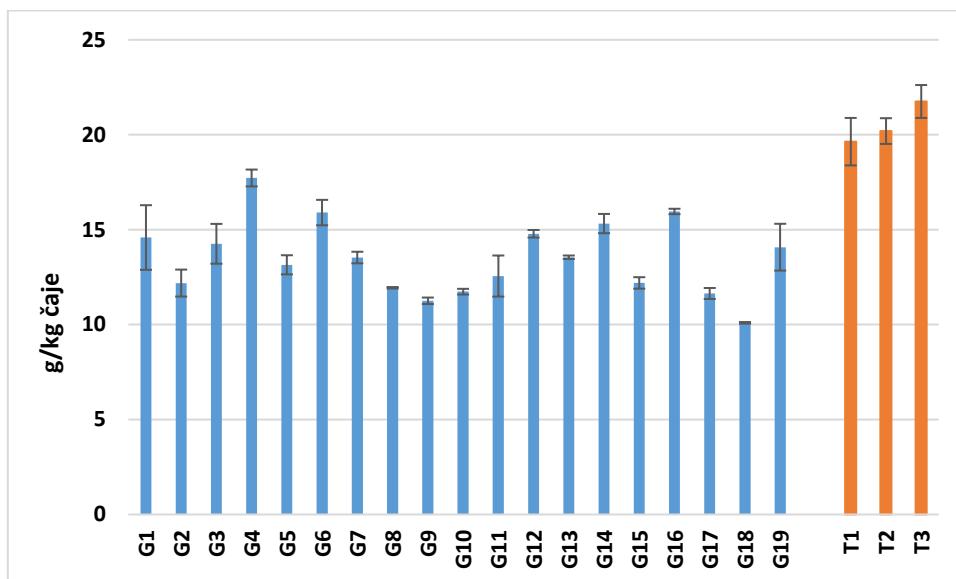
Kapalinový chromatograf:	1260 Infinity (Agilent Technologies)
kolona:	Luna C18 (5 μ m; 250 $\times$ 4,6 mm) 100A
detektor:	DAD

mobilní fáze:	30% methanol
doba analýzy:	30 min
průtok:	0,5 ml/ min
nástřík:	5 μ l
eluce:	izokratická

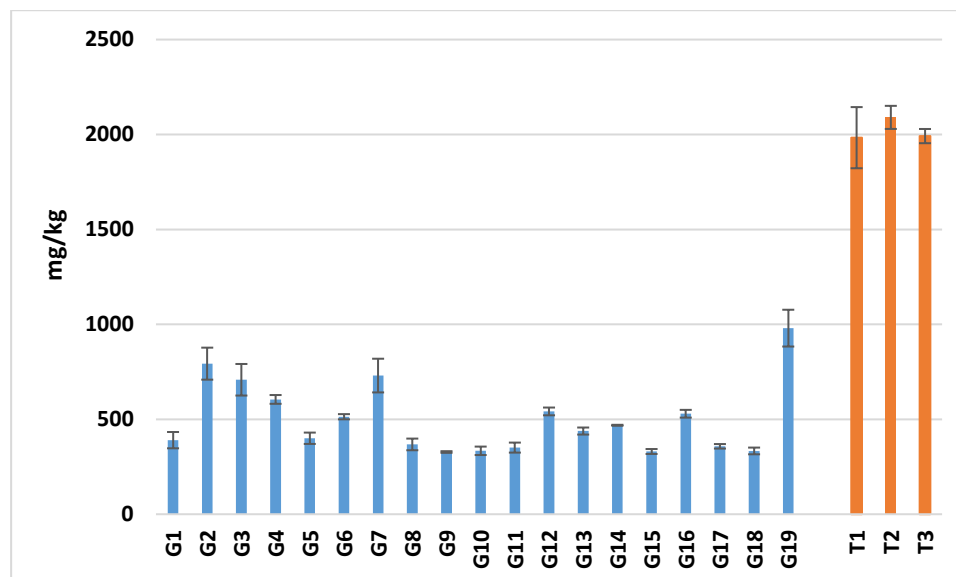
Výsledky a diskuse

U uvedených vzorků zelených čajů dostupných na českém trhu byly jako parametry pro možnosti hodnocení kvality vybrány, celkový obsah polyfenolů, které mají antioxidační vlastnosti a obsah kofeinu a theobrominu, které jsou bioaktivními sloučeninami a mají stimulační účinek.

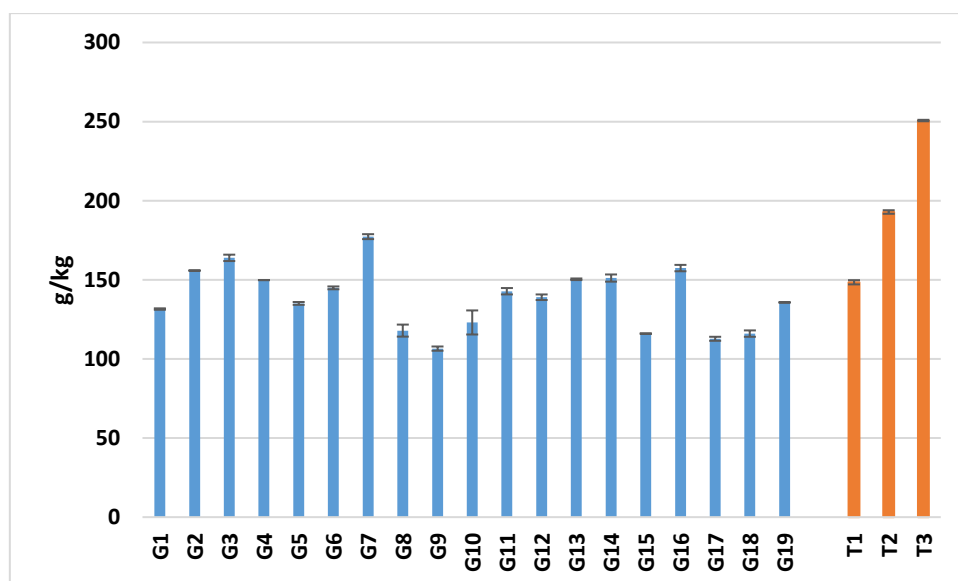
V Grafu 1 je znázorněn změřený obsah kofeinu, který byl u všech vzorků v rozsahu (10,09-21,75) g/kg v sušině čaje. Nejnižší obsah kofeinu měl vzorek G18, nejvyšší naopak vzorek T3, který byl vzorkem zakoupeným v čajovně. V Grafu 2 je znázorněn změřený obsah theobrominu, který byl u všech vzorků v rozsahu (327,71-2090,06) mg/kg v sušině čaje. Nejnižší obsah theobrominu měl vzorek G9, nejvyšší naopak vzorek T2, který byl vzorkem zakoupeným v čajovně. V Grafu 3 je znázorněn změřený obsah celkových polyfenolů, který byl u všech vzorků v rozsahu (106,52-250,67) g/kg v sušině čaje. Nejnižší obsah celkových polyfenolů měl vzorek G9, nejvyšší naopak vzorek T3, který byl vzorkem zakoupeným v čajovně a považován za „kvalitnější“. Výsledky měření obsahu kofeinu, theobrominu a celkových polyfenolů jsou v souladu s literaturou [2, 12] Výsledky měření byly nakonec statisticky zpracovány shlukovou analýzou (Graf 4) a PCA analýzou (Graf 5). Z Grafu 4 lze vidět, že měřené vzorky na základě obsahu kofeinu, theobrominu a celkových polyfenolů vytvořily dva velké shluky T1-T3 a G1-G19, které od sebe byly výrazně odlišné a na základě podobnosti dále rozděleny do menších shluků. Tyto výsledky potvrdila i PCA analýza, kdy vzorky G1-G19 vytvořily jednu skupinu, od které jsou vzorky T1-T3 výrazně vzdáleny a tvoří kompaktní skupinu.



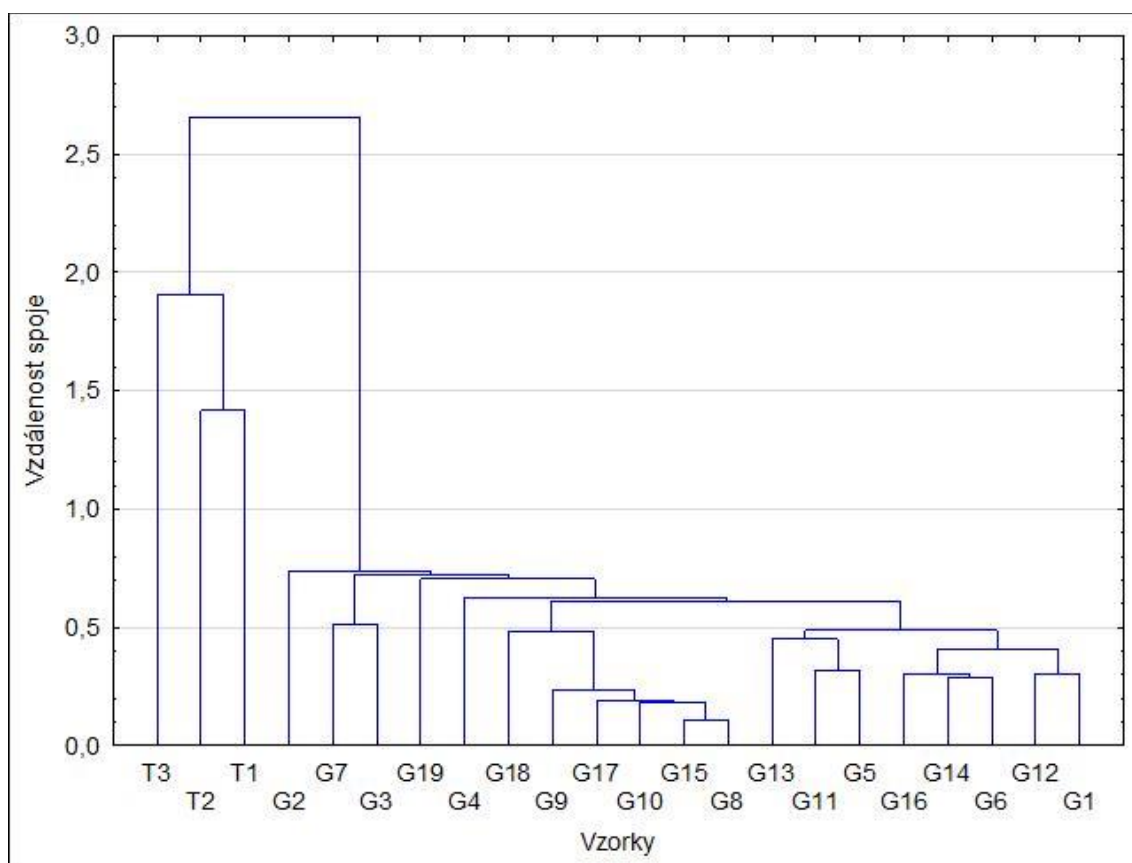
Graf 1: Obsah kofeinu



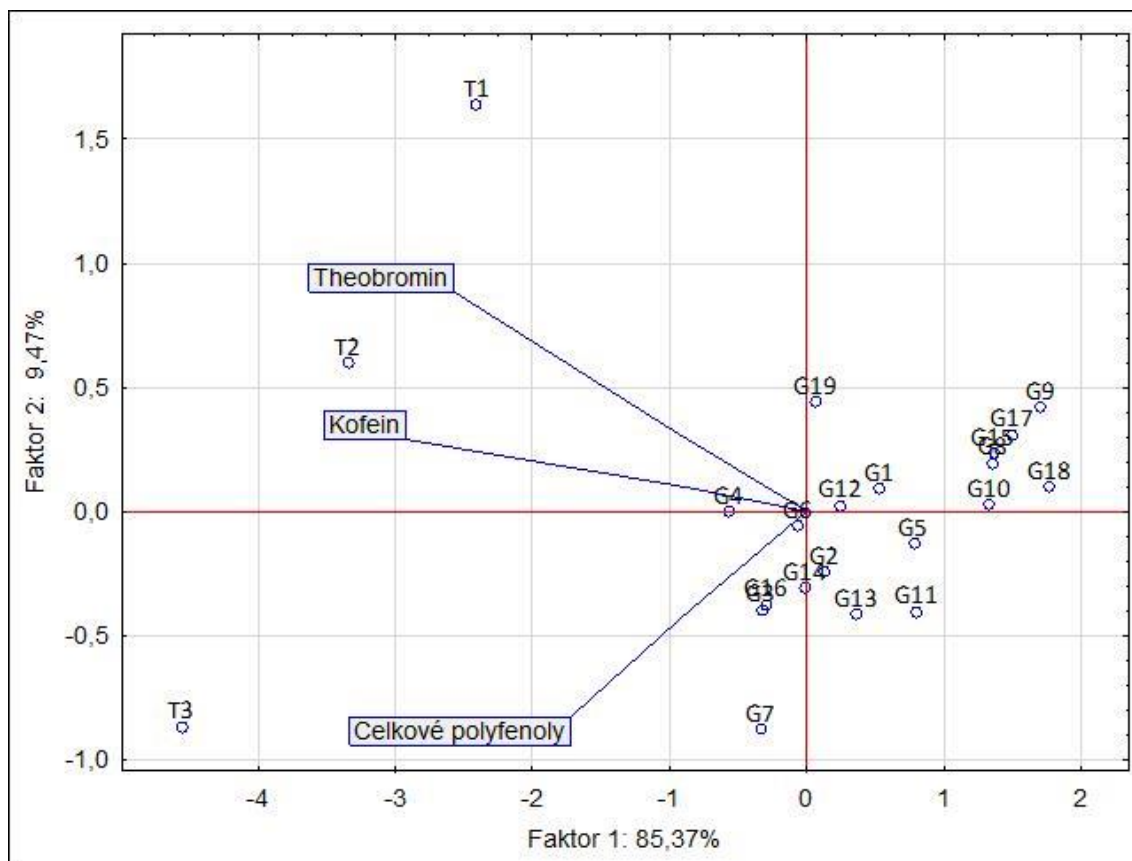
Graf 2: Obsah theobrominu



Graf 3: Obsah celkových polyfenolů



Graf 4: Shluková analýza



Graf 5: PCA analýza

Závěr

U vzorků zelených čajů byly změřeny 3 parametry, obsah kofeinu, obsah theobrominu a obsah celkových polyfenolů. Tato data byla statisticky vyhodnocena shlukovou a PCA analýzou. Vzorky vytvořily dvě skupiny T1-T3 (čaje zakoupené v čajovně) a G1-G19 (čaje sáčkové). Z výsledků vyplývá, že čaje z nálevových sáčků jsou si kvalitativně podobné, předpokládáme u nich, že se nejedná o čaje nejvyšší kvality, a celkově se značně odlišily od čajů zakoupených v čajovnách.

Měření vybraných parametrů u zelených čajů tak potenciálně představuje po změření parametrů více kvalitních čajů jednu z možností hodnocení kvality zelených čajů, jejich rozdělení podle kvality a zařazení neznámých vzorků.

Použitá literatura

1. Sanlier, N., B.B. Gokcen, and M. Altuğ, *Tea consumption and disease correlations*. Trends in Food Science & Technology, 2018. **78**: p. 95-106.
2. Seeram, N.P., et al., *Catechin and caffeine content of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant capacity*. Journal of agricultural and food chemistry, 2006. **54**(5): p. 1599-1603.
3. Dias, T., et al., *White Tea (Camellia Sinensis (L.)): Antioxidant Properties and Beneficial Health Effects Review Article*. 2013.
4. Bhattacharyya, A., et al., *Black tea protects immunocytes from tumor-induced apoptosis by changing Bcl-2/Bax ratio*. Cancer letters, 2004. **209**(2): p. 147-154.

5. Sheikhzadeh, N., et al., *Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (Camellia sinensis) on the immune system of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. Fish & shellfish immunology, 2011. **31**(6): p. 1268-1269.
6. Lopez, T.E., et al., *The impact of green tea polyphenols on development and reproduction in Drosophila melanogaster*. Journal of functional foods, 2016. **20**: p. 556-566.
7. Prasanth, M.I., et al., *A review of the role of green tea (Camellia sinensis) in anti-photoaging, stress resistance, neuroprotection, and autophagy*. Nutrients, 2019. **11**(2): p. 474.
8. Ahmed, S. and J.R. Stepp, *Green tea: The plants, processing, manufacturing and production*. Tea in health and disease prevention, 2013: p. 19-31.
9. Graham, H.N., *Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry*. Preventive medicine, 1992. **21**(3): p. 334-350.
10. Pasrija, D. and C. Anandharamakrishnan, *Techniques for extraction of green tea polyphenols: A review*. Food and Bioprocess Technology, 2015. **8**(5): p. 935-950.
11. Lee, K.H., M.A. Bonn, and M. Cho, *Green tea quality attributes: a cross-cultural study of consumer perceptions using importance–performance analysis (IPA)*. Journal of foodservice business research, 2018. **21**(2): p. 218-237.
12. Rady, I., et al., *Cancer preventive and therapeutic effects of EGCG, the major polyphenol in green tea*. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 2018. **5**(1): p. 1-23.
13. Li, S., et al., *Black tea: chemical analysis and stability*. Food & function, 2013. **4**(1): p. 10-18.
14. Ho, K.K., et al., *Production and Polyphenolic Composition of Tea*. Nutrition Today, 2018. **53**(6): p. 268-278.
15. Chen, Q., et al., *Recent developments of green analytical techniques in analysis of tea's quality and nutrition*. Trends in Food Science & Technology, 2015. **43**(1): p. 63-82.
16. Standardization, I.O.f., *ISO 14502-1: determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: content of total polyphenols in tea: colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent*. 2005, ISO Geneva.

Kontaktní adresa

Ing. Ladislava Rýdlová, VŠCHT Praha,
 Fakulta potravinářské a biochemické technologie,
 Ústav konzervace potravin, Technická 3, Praha 6 - Dejvice, 166 28,
 Tel: +420 220 443 246, email: rydloval@vscht.cz

Riziko tvorby biofilmů octových bakterií u nealkoholických nápojů

Risk of acetic acid bacteria biofilm formation in soft drinks

Šviráková Eva, Bambasová Lucie

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha, Česká republika

Souhrn

V průmyslu výroby nealkoholických nápojů je výskyt octových bakterií často spojován s potenciálním mikrobiologickým rizikem. Při výrobě ochucených nesycených nápojů (na bázi sladké vody, minerální vody, sladké syrovátky či jiných substancí) je důležité zjišťovat, mimo jiné, také případnou tvorbu biofilmů u octových bakterií. Cílem této práce bylo zjistit schopnost tvorby biofilmů u 9 kmenů octových bakterií, originálně pocházejících z potravinářského průmyslu jako nežádoucí kontaminace, s využitím různých detekčních metod: Christensenovy zkumavkové metody (v modifikaci na mikrotitračních destičkách), plotnové metody (s agarem a kongo červení), sprejového testu TBF 300S (Christeyns, BEL) a spektrofotometrické metody (A_{530}). Bylo konstatováno, že všechny testované kmeny tvořily biofilmy, a že pro jejich detekci byly vhodné všechny použité metody. Z kvalitativních metod se jako nejvhodnější ukázal být sprejový test TBF 300S (Christeyns, BEL), a to kvůli rychlosti a praktičnosti provedení. Výsledky této práce mohou být využitelné zejména v průmyslu výroby nealkoholických nápojů, pro rychlou detekci biofilmů technologicky nežádoucích octových bakterií *Gluconacetobacter* spp., *Gluconobacter* spp. a *Kozakia* sp.

Klíčová slova: *nealkoholické nápoje, octové bakterie, tvorba biofilmů, mikrobiologické riziko, zdraví a bezpečnost.*

Summary

In the soft drinks industry, the presence of acetic acid bacteria is often associated with a potential microbiological risk. In the production of flavoured non-carbonated beverages (based on fresh water, mineral water, sweet whey or other substances) it is important, among other things, to detect potential biofilm formation in acetic acid bacteria. The aim of this work was to determine the biofilm formation ability in 9 strains of acetic acid bacteria originating from the food industry as an undesirable contamination, using various detection methods: the Christensen tube method (modified in microtiter plates), the plate method (using agar with Congo red), the TBF 300S spray test (Christeyns, BEL) and the spectrophotometric method (A_{530}). It was found that all tested strains formed biofilms and that all used methods were suitable for biofilms detection. Among the qualitative methods, the TBF 300S spray test has proven to be the most suitable, because of its speed and practicality. The results of this work can be used especially in the soft drinks industry

for the rapid biofilm detection in technologically undesirable acetic acid bacteria as *Gluconacetobacter* spp., *Gluconobacter* spp. and *Kozakia* sp.

Keywords: soft drinks, acetic acid bacteria, biofilm formation, microbiological risk, health and safety.

ÚVOD

Výskyt octových bakterií v nápojářském průmyslu je často spojován s nežádoucí kontaminací a potenciálním mikrobiologickým rizikem (Roos a de Vuyst, 2018), a to především při výrobě nealkoholických ochucených nesycených nápojů na bázi sladké vody, minerální vody nebo sladké syrovátky. Produkty metabolismu octových bakterií mohou v nápojích způsobovat závažné senzorické defekty, například změnu chuti, vůně a textury.

Octové bakterie a jimi vytvořené biofilmy se mohou podílet na snížené zdravotní mikrobiální bezpečnosti a jakosti nealkoholických nápojů (Ashtavinayak a Elizabeth, 2016). Biofilmy octových bakterií představují mikrobiální konzorcia, která jsou obtížně odstranitelná z povrchových i vnitřních částí výrobního zařízení a pomůcek. Oproti planktonním buňkám jsou odolnější například vůči teplotě, tlaku a působení dezinfekčních prostředků (Flemming a kol., 2016). Z toho důvodu se při kontrole tvorby a výskytu biofilmů uplatňují v rychlé a spolehlivé detekční metody.

Cílem této práce bylo zjistit schopnost tvorby biofilmů u 9 kmenů octových bakterií, originálně pocházejících z potravinářského průmyslu jako nežádoucí kontaminace, s využitím klasických i moderních detekčních metod.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Použité bakteriální kmeny

K experimentům bylo použito 9 sbírkových kmenů octových bakterií (tři kmeny *Gluconoacetobacter* spp., pět kmenů *Gluconobacter* spp., jeden kmen *Kozakia baliensis*) a jeden kmen *Asaia lannensis* 2 (Šístková a kol., 2019), izolovaný z nealkoholického nápoje. Označení a specifikace kmenů jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1 Použité bakteriální kmeny

Druh kmene	Označení kmene	Původ kmene
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> (Gosselé a kol., 1983) (Yamada a kol., 1998 ^{VP})	CCM 1808	Ocet
<i>Gluconacetobacter liquefaciens</i> (Asai, 1935) (Yamada a kol., 1998 ^{VP})	CCM 3621	Sušené kaki (JPN)
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> (Yamada, 1984) (Yamada a kol., 1998 ^{VP})	CCM 3611 ^T	Paříž (FRN)
<i>Gluconobacter albidus</i>	CCM 2365	Jirina sp. (<i>Dahlia coccinea</i>)
<i>Gluconobacter cerinus</i>	CCM 1792	Nespecifikováno
<i>Gluconobacter cerinus</i>	CCM 1806 ^T	Muškat vzpřímený (<i>Pelargonium zonale</i>)
<i>Gluconobacter oxydans</i>	CCM 1772	Nespecifikováno
<i>Gluconobacter oxydans</i>	CCM 3618	Hroznové víno
<i>Kozakia baliensis</i>	CCM 7137	Palmový cukr
<i>Asaia lannensis</i>	2	Nealkoholický nápoj (zelený čaj s příchutí broskve, slazený) (CZE)

Kultivace testovaných kmenů

Kultivace testovaných kmenů octových bakterií byla uskutečněna v Sabouraudově bujónu (bujón SB) se 4 hm. % glukózy poté, co byl sterilní SB (10 ml) zaočkován suspenzí buněk konkrétního kmene (inokulum, tzn. 1 obj. %). Pro kmeny *Gluconobacter* spp. a *Kozakia* sp. probíhaly kultivace při teplotě 30 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek. Pro kmeny *Gluconobacter* spp. a *Kozakia* sp. probíhaly kultivace při teplotě

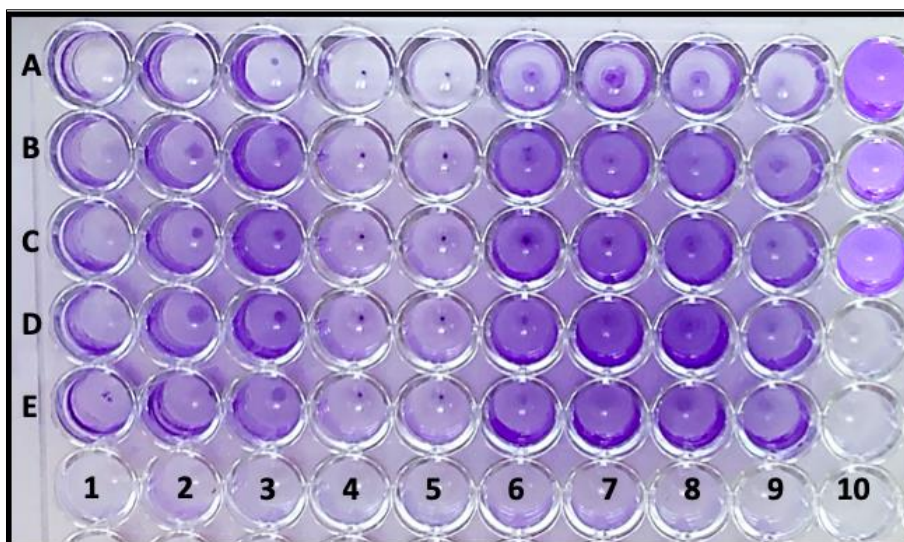
25 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek. Po ukončení kultivací byly čerstvé kmeny připraveny pro experimenty nebo uchovány při teplotě 4 °C.

Detekce biofilmů u testovaných kmenů

Tvorba biofilmů u testovaných octových bakterií byla zjišťována kvalitativně i kvantitativně. Pro kvalitativní vyšetření biofilm positivity/negativity byly použity tři metody/testy (tj. Christensenova zkumavková metoda s modifikací v mikrotitračních destičkách, plotnová metoda využívající agar s kongo červení a sprejový test TBF 300S). Pro kvantifikaci biofilmů byla použita spektrofotometrická metoda využívající laboratorní spektrofotometr EPOCH 2 (BioTek Instruments, USA) s tím, že měření absorbance probíhalo při vlnové délce λ_{530} .

Detekce biofilmů u testovaných kmenů s využitím Christensenovy zkumavkové metody

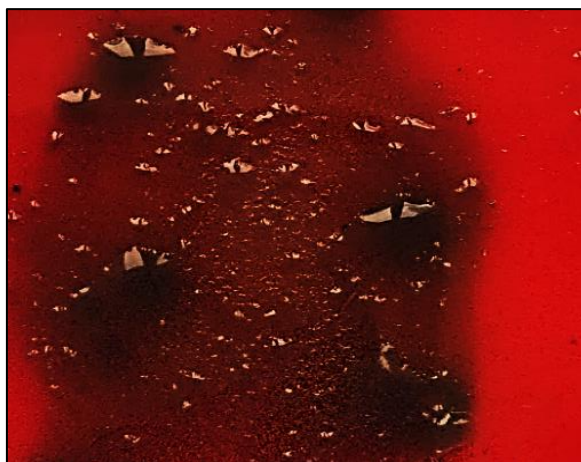
U výše uvedených 9 testovaných kmenů octových bakterií byla testována schopnost tvorby biofilmů pomocí Christensenovy zkumavkové metody v modifikované podobě v mikrotitračních destičkách (viz obr. 1). Nejprve byly testované kmeny kultivovány v bujónu SB, při teplotě 30 °C, příp. teplotě 25 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek. Po kultivacích byly do sterilních mikrotitračních destiček tyto kmeny pipetovány (150 μ l); každý kmen byl pipetován v 5 paralelách. Mikrotitrační destičky byly kultivovány při optimálních kultivačních teplotách jednotlivých kmenů 30 °C, příp. 25 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek. Následně byly destičky opláchnuty deionizovanou vodou (5 $\times$) a byla na ně aplikována 0,1 % krystalová violet' (150 μ l) s dobou působení 45 min. Barvivo bylo poté vypláchnuto deionizovanou vodou (5 $\times$). Pokud se jednalo o kmen tvořící biofilm, došlo ke zbarvení povrchu mikrotitrační destičky do fialova. Hodnocení biofilm positivity a biofilm negativity probíhalo vizuálně podle intenzity vzniklého zbarvení – tj. navázané krystalové violeti na buňky testovaných kmenů (+... kmen vykazující biofilm pozitivitu, –... kmen vykazující biofilm negativitu).



Obr. 1 Příklad detekce biofilmů u testovaných octových bakterií s využitím Christensenovy zkumavkové metody v modifikaci v mikrotitračních destičkách; pozice: 1) *Gla. liquefaciens* CCM 3621, 2) *Gla. xylinus* CCM 3611, 3) *Gla. hansenii* CCM 1808, 4) *K. baliensis* CCM 7137, 5) *Glc. albidus* CCM 2365, 6) *Glc. cerinus* CCM 1860T, 7) *Glc. cerinus* CCM 1792, 8) *Glc. oxydans* CCM 1772, 9) *Glc. oxydans* CCM 3618, 10) A-C: *A. lannensis* 2 (pozitivní kontrola), 10) D-E) slepý pokus (negativní kontrola).

Detekce biofilmů u testovaných kmenů s využitím plotnové metody s agarem a kongo červení

Biofilmy u 9 testovaných octových bakterií byly také testovány pomocí plotnové metody, s využitím agaru s kongo červení. Pomocí této metody však konkrétně nebyly detekovány vytvořené biofilmy, ale byla detekována přítomnost extracelulárních polysacharidů, které při tvorbě biofilmů vznikly. Nejprve bylo připraveno kultivační médium, které obsahovalo následující složky: Sabouraudův agar se 4,0 hm. % glukózy (agar SA) (500 ml). K sterilnímu médiu byl při teplotě cca 55 °C přidán (2,5 ml) sterilní vodný roztok kongo červeně (0,8 g l⁻¹). Takto připravené médium bylo nalito na Petriho misky (kulaté), a po jeho ztuhnutí zaočkováno buňkami čerstvě oživených testovaných kmenů (100 µl; technikou roztěru). Kmeny byly kultivovány při svých optimálních kultivačních teplotách 30 °C, příp. 25 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek. Ohledně vizuálního posouzení biofilmpozitivity a biofilmnegativity testovaných kmenů bylo postupováno následovně. Pokud se na médiu objevily červené kolonie, jednalo o kmen netvořící biofilm. Pokud se na povrchu kultivačního média objevily černé suché kolonie (viz obr. 2), jednalo se o kmen schopný tvořit biofilm.



Obr. 2 Kolonie kmene *Gln. oxydans* CCM 1772, tvořícího biofilm, po kultivaci na agaru s kongo červení.

Detekce biofilmů u testovaných kmenů s využitím sprejového testu (preparát TBF 300S)

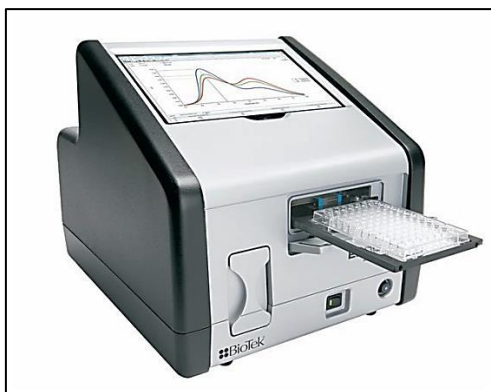
Detekce biofilmů u 9 testovaných octových bakterií byla také uskutečněna s využitím detekčního spreje TBF 300S (Christeys, BEL), vyvinutého v rámci projektové studie Christeys N.V. (BEL) a distribuované po České republice společností Christeys s.r.o. (CZE). Testované kmeny (100 μ l) byly kultivovány ve skleněných zkumavkách při svých optimálních kultivačních teplotách 30 °C, příp. při teplotě 25 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek, aby došlo k vytvoření biofilmů. Po kultivacích byly obsahy zkumavek vylity a opláchnuty destilovanou vodou (3 $\times$). Na opláchnuté vnitřní části zkumavek byl aplikován (1-2 stříknutí) detekční sprej TBF 300S (Christeys, BEL) výrazně růžové barvy (viz obr. 3), s dobou působení 5 min, aby došlo k probarvení případně vzniklých extracelulárních polysacharidů, které úzce souvisí s tvorbou bakteriálních biofilmů.



Obr. 3 Kolonie kmene *Gln. oxydans* CCM 1772, tvořícího biofilm, po aplikaci detekčního spreje TBF 300S (Christeys, BEL).

Detekce biofilmů u testovaných kmenů s využitím spektrofotometrické metody

U 9 testovaných sbírkových kmenů octových bakterií byla provedena kvantifikace vytvořených biofilmů pomocí spektrofotometrické metody při vlnové délce 530 nm (a to na základě předchozího proměření spektra absorbancí při jednotlivých vlnových délkách v rozmezí 350 až 680 nm) s využitím spektrofotometru EPOCH 2 (BioTek Instruments, USA) (viz obr. 4). Nejprve byly testované kmeny kultivovány v bujónu SB, při teplotě 30 °C, příp. při teplotě 25 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek. Po kultivacích byly do sterilních mikrotitračních destiček kmeny pipetovány (200 µl); každý kmen byl pipetován v 5 paralelách. Mikrotitrační destičky byly kultivovány při optimálních kultivačních teplotách jednotlivých kmenů 30 °C, příp. při teplotě 25 °C, po dobu 48 h, za aerobních podmínek. Byly využity speciální mikrotitrační destičky s rovným dnem, uzpůsobené pro spektrofotometrickou metodu. Po kultivaci byly všechny jamky destičky promyty destilovanou vodou (300 µl). Poté došlo ve všech jamkách k fixaci vytvořených biofilmů methanolem (150 µl), s působením 20 min. Poté byly obsahy jamek vymyty a destička byla ponechána k vyschnutí při laboratorní teplotě po dobu 18 h. Následně byly obsahy jamek barveny krystalovou violetí (s působením 15 min). Přibližně 30 min před vlastním měřením byl do jamek pipetován 95% ethanol (150 µl), z důvodu uvolnění vytvořených biofilmů od stěn jamek.



Obr. 4 Spektrofotometr EPOCH 2 (BioTek Instruments, USA) použitý pro kvantifikaci vytvořených biofilmů u testovaných octových bakterií.

VÝSLEDKY

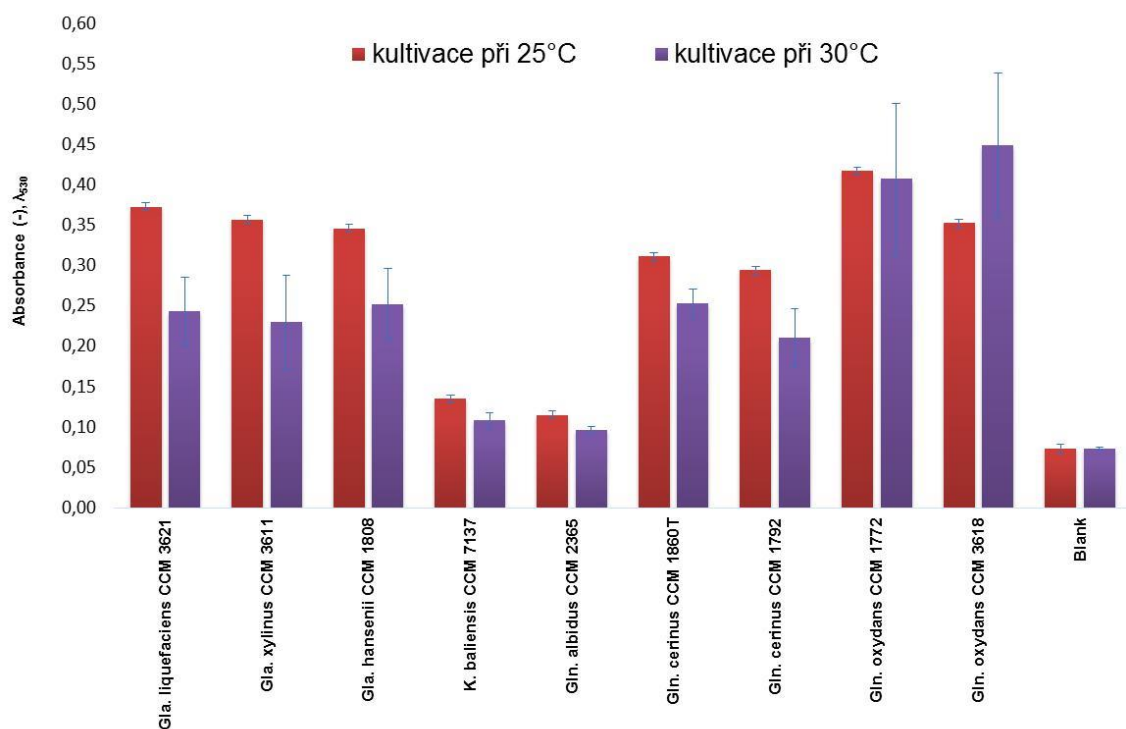
Vybrané výsledky uskutečněných experimentů, konkrétně kvalitativní výsledky zjištění tvorby biofilmů u testovaných octových bakterií s využitím třech detekčních metod (Christensenovy zkumavkové metody v modifikaci na mikrotitračních destičkách, plotnové metody s agarem a kongo červení, sprejového testu TBF 300 S) jsou presentovány v následující tab. 2 a představují průměr ze třech uskutečněných měření. Vybrané výsledky uskutečněných experimentů, konkrétně kvantitativní výsledky tvorby biofilmů u testovaných octových bakterií s využitím spektrofotometrické metody (A_{530}), jsou presentovány na obr. 5 a představují průměr ze třech uskutečněných měření.

Tab. 2 Tvorba biofilmů u testovaných octových bakterií s využitím třech detekčních mikrobiologických metod – kvalitativní výsledky

Testovaný kmen	Tvorba biofilmu (+/-)		
	Christensenova zkumavková metoda	Plotnová metoda (agar s kongo červení)	Sprejový test (TBF 300S)
<i>Gluconoacetobacter hansenii</i> CCM 1808	+	+	+
<i>Gluconoacetobacter liquefaciens</i> CCM 3621	+	+	+
<i>Gluconoacetobacter xylinus</i> CCM 3611	+	+	+
<i>Gluconobacter albidus</i> CCM 2365	+	+	+

<i>Gluconobacter cerinus</i> CCM 1792	+	+	+
<i>Gluconobacter cerinus</i> CCM 1806 ^T	+	+	+
<i>Gluconobacter oxydans</i> CCM 1772	+	+	+
<i>Gluconobacter oxydans</i> CCM 3618	+	+	+
<i>Kozakia baliensis</i> CCM 7137	+	+	+
<i>Asaia lannensis</i> 2 (pozitivní kontrola)	+	+	+
Slepý pokus (negativní kontrola)	—	—	—

+... tvorba biofilmu —... žádná tvorba bifilmu



Obr. 5 Tvorba biofilmů u testovaných octových bakterií s využitím spektrofotometrické metody – kvantitativní výsledky.

ZÁVĚR

Bylo konstatováno, že pro zjištění tvorby biofilmů u testovaných octových bakterií byly vhodné všechny čtyři použité detekční metody. Z kvalitativních metod se jako vhodný ukázal být sprejový test TBF 300S (Christeys, BEL), a to zejména kvůli rychlosti a praktičnosti provedení. Výsledky této práce mohou být využitelné zejména v průmyslu výroby nealkoholických nesycených ochucených nápojů na různých bázích, při spolehlivé detekci biofilmů technologicky nežádoucích octových bakterií *Gluconacetobacter* spp., *Gluconobacter* spp. a *Kozakia* sp.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství, Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projektem QK1710156 (2017-2021, MZE/QK), v programu QK – Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025 "ZEMĚ", s dobou řešení projektu: 02/2017-12/2021.

LITERATURA

Ashtavinayak, P.; Elizabeth, H. A. Gramnegative bacteria in brewing. *Advances in Microbiology* **2016**, 6, 195-209.

De Roos, J.; de Vuyst, L. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology* **2018**, 49, 115-119.

Flemming, H. -C.; Wingender, J.; Szewzyk, U.; Steinberg, P.; Rice, S. A.; Kjelleberg, S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology* **2016**, 14, 563-575.

Šístková, I; Horsáková, I.; Čěrovský, M.; Čížková, H. Efficacy of chemical agents and power ultrasound on biofilms formed by *Asaia* spp. – spoilage bacteria in beverage industries. *Czech Journal of Food Sciences* **2019**, 37, 221-225.

Kontaktní adresa

Ing. Eva Šviráková, Ph.D., Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3/5, 166 28 Praha 6 – Dejvice, Česká republika, e-mail: eva.svirakova@vscht.cz

Hodnocení kvality chilli papriček

The quality evaluation of chilli peppers

Adam Tobolka¹, Tereza Škorpilová¹, Zuzana Dvořáková¹, Eloy Fernández Cusimamani², Aleš Rajchl^{1*}

¹Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

²Katedra tropických a subtropických plodin a agrolesnictví, Fakulta tropického zemědělství, Česká zemědělská univerzita v Praze

Souhrn

Kapsaicinoidy patří do skupiny alkaloidů zodpovědných za palčivost paprik. Obsah kapsaicinoidů v paprikách je důležitým kvalitativním parametrem, pro jehož stanovení by bylo vhodné vyvinout spolehlivou a rychlou analytickou metodu. V této práci byla použita metoda DART/TOF-MS ke stanovení kapsaicinoidů v různých odrůdách chilli papriček. Výsledná koncentrace kapsaicinu v chilli papričkách se pohybovala v rozmezí od 0 do 16 454 mg/kg sušiny. Korelační koeficient pro metody HPLC/DAD a DART/TOF-MS byl $R^2 = 0,8452$. Metoda DART/TOF-MS je vhodná pro rychlou semikvantitativní analýzu obsahu kapsaicinoidů.

Summary

Capsaicinoids belong into the group of alkaloids responsible for hot characteristics of peppers. The content of capsaicinoids is an important qualitative parameter for which a reliable and rapid method should be developed. In this thesis was used DART/TOF-MS method to determine capsaicinoids in different varieties of chilli peppers. The resulting concentration of capsaicin in chilli peppers was ranged from 0 to 16 454 mg/kg of dry weight. The correlation coefficient for HPLC/DAD and DART/TOF-MS methods was $R^2 = 0.8452$. DART/TOF-MS method is suitable for rapid semiquantitative analysis of capsaicinoids content.

Klíčová slova: *chilli papričky, kapsaicinoidy, HPLC/DAD, DART/TOF-MS*

Úvod do problematiky

Chilli papričky jsou plody rostliny rodu *Capsicum* z čeledi lilkovitých (Solanaceae) (Stoica et al., 2016). Existuje více než třicet druhů chilli papriček rodu *Capsicum*, z něhož pět druhů je domestikovaných. Konkrétně se jedná o druhy

C. pubescens, *C. baccatum*, *C. annuum*, *C. chinense* a *C. frutescens*. Poslední tři druhy jsou hojně rozšířeny a vykazují nejvyšší míru palčivosti (Bosland and Baral, 2007). Autoři vědeckých prací přikládají této zelenině velkou důležitost s ohledem na zdravou výživu a jejich antioxidační vlastnosti, a to zejména z důvodu obsahu některých nutričně cenných látek jako je obsah pigmentů (karotenoidní sloučeniny), vitamínů C a A, (Ibarra-Junquera et al., 2009; Arnnok et al., 2012; Marıncaş et al., 2018). Chilli papričky jsou také bohatým zdrojem flavonoidních látek a dalších fytochemických sloučenin, které mohou přispívat k antiradikálové aktivitě. Předpokládá se, že mají určitou preventivní ochrannou funkci proti koronárnímu onemocnění srdce, mrtvici, diabetu a některým formám rakoviny (Oboh and Rocha, 2007; Ibarra-Junquera et al., 2009; Menichini et al., 2009). Palčivost chilli papriček je uváděna v jednotkách SHU (Scoville Heat Units). K určení jednotek SHU slouží organoleptický test, kdy panel hodnotitelů zaznamenává pálivou chuť v nejvíce zředěném extraktu chilli papričky (Scoville, 1912).

Kapsaicinoidy jsou skupinou látek zodpovědných za ostrou až palčivou chuť chilli papriček. Mezi hlavní kapsaicinoidy se řadí především kapsaicin, dihydrokapsaicin, nordihydrokapsaicin, homokapsaicin, homodihydrokapsaicin a nonivamid (Rollyson et al., 2014). Kapsaicinoidy mají určité fyziologické a farmakologické účinky včetně analgetických, protirakovinových, protizánětlivých, antioxidačních a antiobezitních. Proto mohou mít potenciální využití jako úleva od bolesti, prevence rakoviny a úbytek hmotnosti. Kapsaicinoidy navíc vykazují žádoucí efekt na kardiovaskulární a gastrointestinální systém (Luo, Peng and Li, 2011). Kapsaicinoidy se řadí mezi dvanáct alkaloidů, které jsou odvozeny od vanillylamidu a C9 až C11 trans-monoenových a nasycených mastných kyselin s rozvětveným i přímým řetězcem (Alothman et al., 2012). (Velíšek a Hajšlová, 2009) uvádí mastné kyseliny od C8 až C11. Kapsaicin (trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamid) a dihydrokapsaicin (8-methyl-N-vanillylnonanamid) jsou hlavními látkami této skupiny, které přispívají téměř 90 % k celkovému počtu kapsaicinoidů v chilli papričkách. Syntetizují se a akumulují v epidermální tkáni placenty při dozrávání plodů. Nacházejí se také v oplodí a semenech plodů (Ananthan, Subhash and Longvah, 2018). Akumulace kapsaicinoidů se zvyšuje během dozrávání plodů postupně od zeleného po červené zabarvení papriky. Bylo zjištěno, že množství kapsaicinoidů a pálivost chilli papriček je ovlivněna zejména genetikou a environmentálním prostředím, ve kterém chilli papričky rostou. Mezi další faktory ovlivňující palčivost chilli papriček patří fáze dozrávání plodu, druh papričky, kultivar papričky a klimatické podmínky (Gnayfeed et al., 2001; Velíšek a Hajšlová, 2009).

Pro stanovení kapsaicinoidů jsou používány různé metody, patří mezi ně spektrofotometrie (Perucka and Oleszek, 2000; Gahungu et al., 2011; Ryu et al., 2017), vysokoúčinná kapalinová chromatografie s fluorescenční detekcí (Kirschbaum-Titze et al., 2002; Kuzma et al., 2015; Barbero et al., 2016; Schmidt et al., 2017), detekcí fotodiodovým (UV-Vis) detektorem (Kozukue et al., 2005; Al Othman et al., 2011; Butnariu, Caunii and Putnoky, 2012; Bae et al., 2013), s hmotnostním detektorem (MS) (Garcés-Claver et al., 2006; Allothman et al., 2012; Sganzerla et al., 2014). Dále byla použita plynová chromatografie nejčastěji ve spojení s hmotnostním detektorem

(Manirakiza, Covaci and Schepens, 1999; Cisneros-Pineda et al., 2007; Peña-Alvarez, Ramírez-Maya and Alvarado-Suárez, 2009; Saha et al., 2015). Dalšími způsoby stanovení byly metody založené na biochemické reakci (Mohammad, Ahmad and Heng, 2014; Ma et al., 2016; Sabela et al., 2016).

Experimentální část

Cílem práce bylo stanovit koncentraci kapsaicinu v unikátním souboru vzorků chilli papriček validovanou a optimalizovanou metodou HPLC/DAD. Následně zhodnotit použitelnost metody DART/TOF-MS pro kvantitativní analýzu kapsaicinu ve vzorcích chilli papriček.

Vzorky byly dodány z Botanické zahrady Fakulty tropického zemědělství ČZU v Praze. Po celou dobu byly uskladněny v mrazničce při -18 °C.

Příprava vzorků chilli papriček pro analýzu metodou HPLC/DAD a DART/TOF-MS

Chilli papričky byly nejdříve zbaveny stopky a semínek. Placenta, oplodí a dužnina chilli papriček byla nakrájena na malé kousky a následně na analytických vahách naváženo množství 2 g s přesností na čtyři desetinná místa do kádinky. Bylo přidáno 10 ml methanolu, směs byla homogenizována ultra-turraxem (5 000 rpm). Směs byla kvantitativně převedena do 25 ml odměrné baňky a doplněna po rysku methanolem. Vzorky byly každých 30 minut protřepány a celková doba extrakce byla 2 h při teplotě 25 °C. Extrakty byly přefiltrovány přes PTFE mikrofiltr do vialek a uloženy v mrazničce při -18 °C. Příprava vzorků pro analýzu metodou DART/TOF-MS byla totožná s výše uvedeným postupem.

Stanovení kapsaicinoidů metodou HPLC/DAD

Ke stanovení koncentrace kapsaicinoidů ve vzorcích chilli papriček byla použita HPLC na reverzní fázi. Stacionární fází byla C18 (250×4,6 mm; 5 µm) a mobilní fází byl roztok kyseliny fosforečné (0,03 M H₃PO₄/H₂O) a methanolu v poměru 40:60 (v/v). Složení mobilní fáze bylo převzato od (Bae et al., 2013). Teplota na koloně byla 25 °C, objemový průtok mobilní fáze činil 1 ml/min, objem nástriku vzorku byl 5 µl. Byla použita izokratická eluce mobilní fáze a celková doba analýzy činila 20 minut. Kapsaicinoidy byly detekovány při 282 nm fotodiodovým detektorem.

Stanovení kapsaicinoidů metodou DART/TOF-MS

Parametry hmotnostního spektrometru byly nastaveny na základě diplomové práce, kterou vypracovala Ing. Zuzana Dvořáková (Dvořáková, 2017). Ionizace vzorků byla provedena ve čtyřech opakováních vzorkovacími tyčinkami Dip-it. Snímání hmotnostních spekter bylo nastaveno v rozsahu hodnot m/z 50-1000. Jako reakční plyn bylo použito helium při objemovém průtoku 3,5 l/min. Analýza probíhala v pozitivním módu. Vzorky byly ionizovány při 350 °C. Rychlost posunu autosampleru byla 1 mm/s. Napětí na fragmentoru, skimmeru a mřížce bylo 175 V, 65 V a 350 V v tomto pořadí.

Výsledky a diskuse

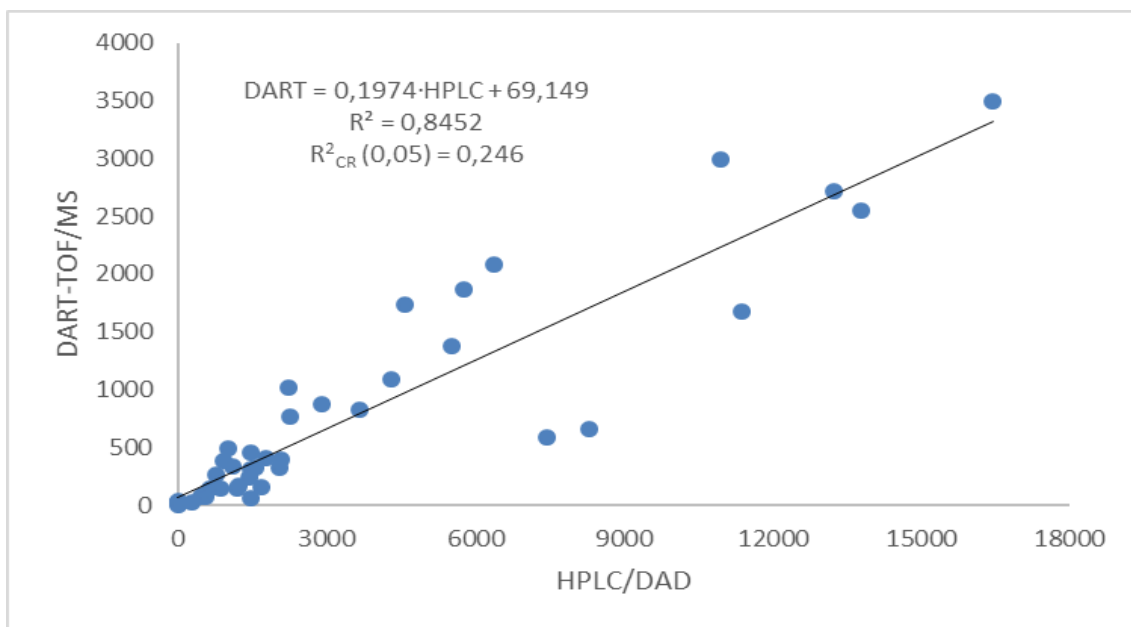
Metoda HPLC/DAD byla validována a optimalizována. Validované parametry byly LOD, LOQ, linearita a opakovatelnost. Opakovatelnost byla vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka pro $n = 5$ a hodnota byla 2,3 %. Limit detekce (LOD) byl 0,018 mg/l a limit kvantifikace (LOQ) 0,062 mg/l. Linearita metody byla v rozmezí hodnot od 1 do 200 mg/l.

Analýza souboru chilli papriček

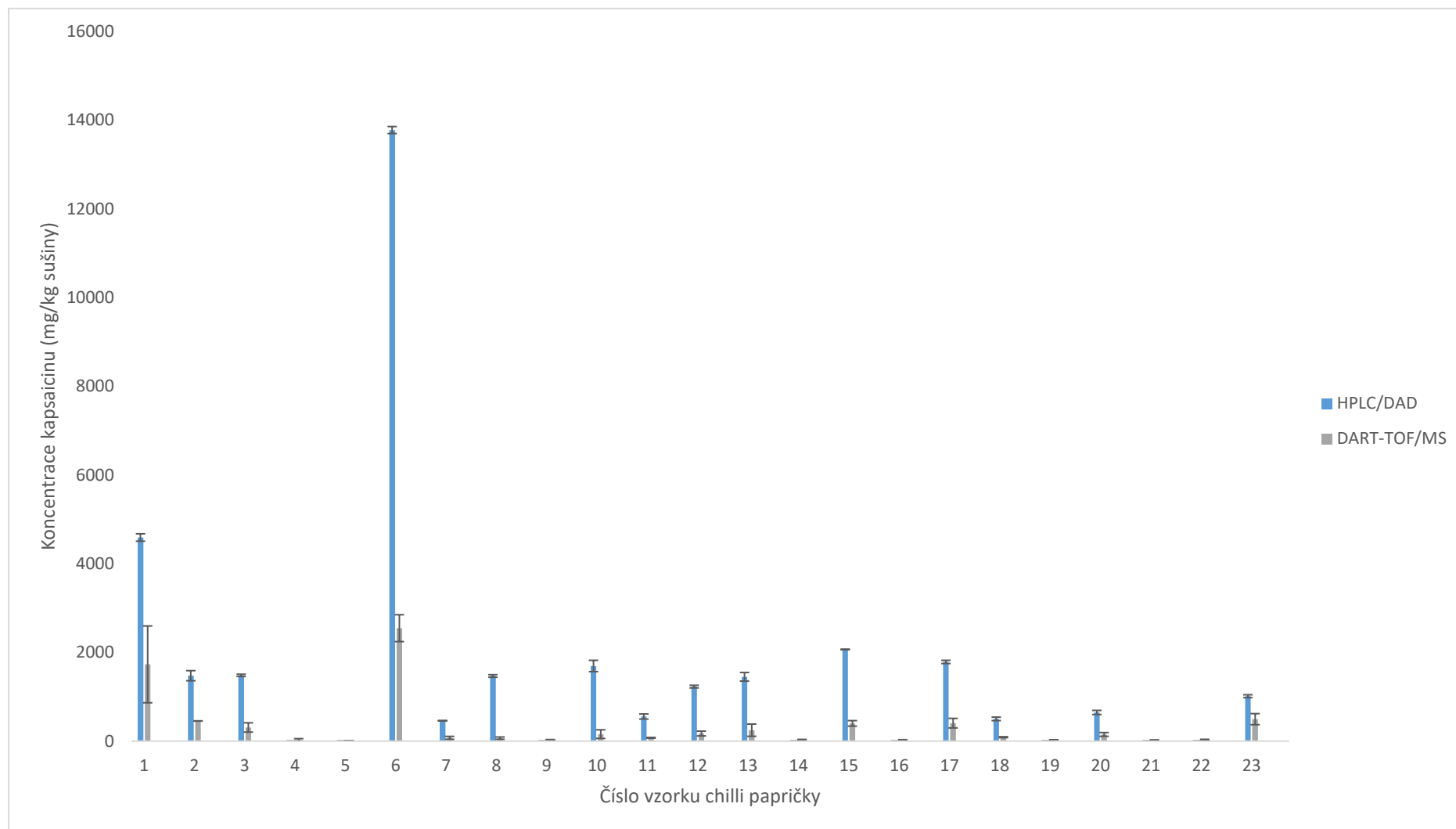
Pomocí metod HPLC/DAD a DART-TOF/MS byl analyzován soubor 46 druhů chilli papriček na obsah kapsaicinu, následně byla tato hodnota vztažena na sušinu. Hodnota sušiny chilli papriček byla převzata z diplomové práce Ing. Dvořákové (Dvořáková, 2017). Koncentrace kapsaicinu stanovená metodou HPLC/DAD se pohybovala v rozmezí od 0 do 16 454 mg/kg sušiny (Obr. 2 a 3).

Sada připravených extraktů chilli papriček byla proměřena v pozitivním módu při teplotě 350 °C metodou DART/TOF-MS. Pro semikvantitativní analýzu byl zvolen ion kapsaicinu o hodnotě m/z 306 $[M+H]^+$. Výsledné hodnoty koncentrací kapsaicinu stanovené metodou DART/TOF-MS se pohybovaly v rozmezí od 6 do 3 490 mg/kg sušiny (Obr. 2 a 3).

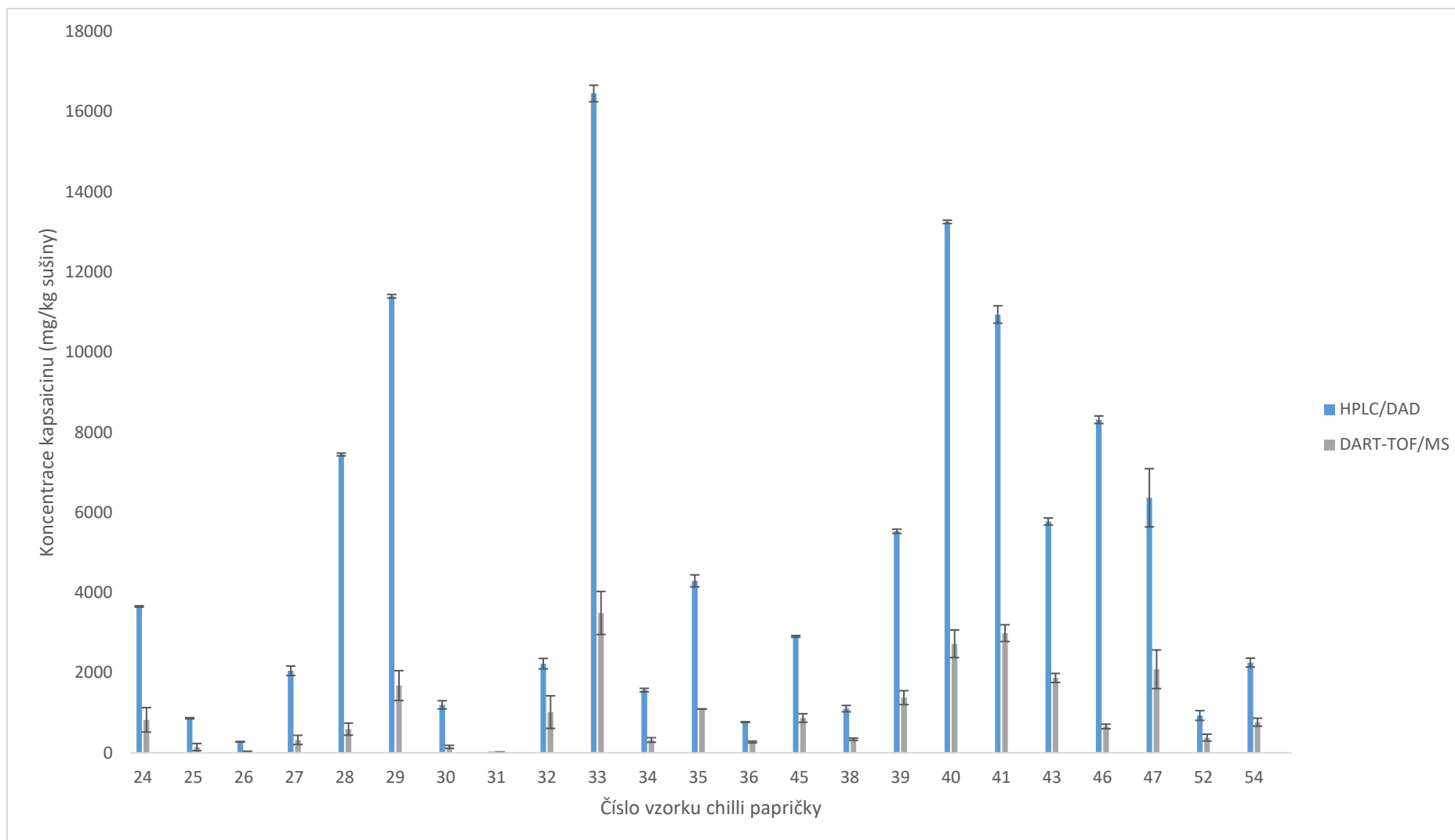
Z výsledných koncentrací kapsaicinu v chilli papričkách byly sestrojeny závislosti koncentrací kapsaicinu naměřených metodou DART-TOF/MS na HPLC/DAD (Obr. 1). Výsledná hodnota korelačního koeficientu pro metodu DART/TOF-MS s metodou HPLC/DAD byla $R^2 = 0,845$.



Obrázek 2: Korelace naměřených koncentrací kapsaicinu (mg/kg sušiny) metodou DART-TOF/MS s HPLC/DAD



Obrázek 3: Výsledné koncentrace kapsaicinu (mg/kg sušiny) v analyzovaných chilli papričkách



Obrázek 4: Výsledné koncentrace kapsaicinu (mg/kg sušiny) v analyzovaných chilli papričkách-pokračování

Závěr

V experimentální části byla proměřena sada chilli papriček na obsah kapsaicinu. Celkem bylo analyzováno 46 druhů chilli papriček. Hlavním cílem bylo posoudit využitelnost metody DART/TOF-MS pro stanovení kapsaicinoidů v chilli papričkách. Metoda HPLC/DAD byla optimalizována a validována. Validacími parametry byla opakovatelnost, limit detekce (LOD), limit kvantifikace (LOQ) a linearita. Opakovatelnost byla vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka ($n = 5$) a hodnota pro HPLC/DAD byla 2,32 %. Hodnota LOD byla 0,018 mg/l. LOQ byl 0,062 mg/l. Linearita byla v rozmezí od 1 do 200 mg/l. Optimalizována byla metoda HPLC/DAD použitím izokratické eluce mobilní fáze, která sestávala z roztoku 0,03 M $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}$ a CH_3OH v poměru 40:60 (v/v). Koncentrace kapsaicinu stanovená metodou HPLC/DAD se pohybovala v rozmezí od 0 do 16 454 mg/kg sušiny. Výsledné hodnoty koncentrací kapsaicinu stanovené metodou DART/TOF-MS se pohybovaly v rozmezí od 6 do 3 490 mg/kg sušiny. Výsledná hodnota korelačního koeficientu mezi metodami HPLC/DAD a DART/TOF-MS pro chilli papričky byla $R^2 = 0,845$. Metoda DART/TOF-MS je vhodná pro rychlý a účinný kvalitativní screening obsahu kapsaicinoidů v potravinářském průmyslu popřípadě farmaceutickém průmyslu. Systematicky podhodnocené výsledné koncentrace kapsaicinu stanovené metodou DART/TOF-MS mohly být způsobeny silnými matričními vlivy chilli papriček. Výsledky DART/TOF-MS by bylo možné patrně zpřesnit využitím izotopicky značeného standardu kapsaicinu, což by mohlo být předmětem dalších studií.

Použitá literatura

- Allothman, Z. A. *et al.* (2012) 'Determination of capsaicinoids in Capsicum species using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry', *Journal of Separation Science*, 35(21), pp. 2892–2896.
- Ananthan, R., Subhash, K. and Longvah, T. (2018) 'Capsaicinoids, amino acid and fatty acid profiles in different fruit components of the world hottest Naga king chilli (Capsicum chinense Jacq)', *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 238, pp. 51–57.
- Arnnok, P. *et al.* (2012) 'Determination of total phenolics and anthocyanin contents in the pericarp of hot chilli pepper (capsicum annum L.)', *International Food Research Journal*, 19(1), pp. 235–243.
- Bae, H. *et al.* (2013) 'Simultaneous quantification of capsaicinoids and ascorbic acid from pungent peppers', *Journal of Chromatographic Science*, 51(5), pp. 412–418.
- Barbero, G. F. *et al.* (2016) 'Fast separation of capsaicinoids from peppers by reversed phase ultra-performance liquid chromatography: Comparison with traditional high-performance liquid chromatography methods', *International Journal of Food Properties*, 19(5), pp. 984–992.
- Bosland, P. W. and Baral, J. B. (2007) "'Bhut Jolokia"—The World's Hottest Known Chile Pepper is a Putative Naturally Occurring Interspecific Hybrid', *HortScience*, 42(2),

pp. 222–224.

Butnariu, M., Caunii, A. and Putnoky, S. (2012) 'Reverse phase chromatographic behaviour of major components in Capsicum Annuum extract', *Chemistry Central Journal*, 6(1), p. 520.

Cisneros-Pineda, O. *et al.* (2007) 'Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico', *Food Chemistry*. Elsevier, 104(4), pp. 1755–1760.

Dvořáková, Z. (2017) *Využití moderních analytických technik pro hodnocení kvality a autenticity potravin*. VŠCHT Praha.

Gahungu, A. *et al.* (2011) 'Volatile compounds and capsaicinoid content of fresh hot peppers (Capsicum Chinense) scotch bonnet variety at red stage', *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(3), pp. 211–218.

Garcés-Claver, A. *et al.* (2006) 'Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in Capsicum fruits by liquid chromatography-electrospray/time-of-flight mass spectrometry', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(25), pp. 9303–9311.

Gnayfeed, M. H. *et al.* (2001) 'Content of bioactive compounds in pungent spice red pepper (paprika) as affected by ripening and genotype', *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 81(15), pp. 1580–1585.

Ibarra-Junquera, V. *et al.* (2009) 'Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers', *Food Chemistry*. Elsevier, 119(4), pp. 1619–1625.

Kirschbaum-Titze, P. *et al.* (2002) 'Pungency in paprika (Capsicum annuum). 1. Decrease of capsaicinoid content following cellular disruption', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society, 50(5), pp. 1260–1263.

Kozukue, N. *et al.* (2005) 'Analysis of eight capsaicinoids in peppers and pepper-containing foods by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography - Mass spectrometry', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society, 53(23), pp. 9172–9181.

Kuzma, M. *et al.* (2015) 'A validated HPLC-FLD method for analysis of intestinal absorption and metabolism of capsaicin and dihydrocapsaicin in the rat', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Elsevier, 103, pp. 59–66.

Luo, X. J., Peng, J. and Li, Y. J. (2011) 'Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids', *European Journal of Pharmacology*. Elsevier B.V., 650(1), pp. 1–7.

Ma, F. *et al.* (2016) 'Simultaneous determination of capsaicin and dihydrocapsaicin for vegetable oil adulteration by immunoaffinity chromatography cleanup coupled with LC-MS/MS', *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. Elsevier B.V., 1021, pp. 137–144.

Manirakiza, P., Covaci, A. and Schepens, P. (1999) 'Solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric determination of capsaicin and some of its analogues from chili peppers (Capsicum spp.)', *Journal of AOAC International*, 82(6), pp. 1399–1405.

- Marincaş, O. *et al.* (2018) 'Optimized and validated method for simultaneous extraction, identification and quantification of flavonoids and capsaicin, along with isotopic composition, in hot peppers from different regions', *Food Chemistry*, 267, pp. 255–262.
- Menichini, Federica *et al.* (2009) 'The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero', *Food Chemistry*, 114(2), pp. 553–560.
- Mohammad, R., Ahmad, M. and Heng, L. Y. (2014) 'Chilli hotness determination based on optical capsaicin biosensor using stacked immobilisation technique', *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 190, pp. 593–600.
- Oboh, G. and Rocha, J. B. T. (2007) 'Distribution and antioxidant activity of polyphenols in ripe and unripe tree pepper (*capsicum pubescens*)', *Journal of Food Biochemistry*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111), 31(4), pp. 456–473.
- Al Othman, Z. A. *et al.* (2011) 'Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* fruit samples using high performance liquid chromatography', 16(10), pp. 8919–8929.
- Peña-Alvarez, A., Ramírez-Maya, E. and Alvarado-Suárez, L. Á. (2009) 'Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry', *Journal of Chromatography A*, 1216(14), pp. 2843–2847.
- Perucka, I. and Oleszek, W. (2000) 'Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annuum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography', *Food Chemistry*, 71(2), pp. 287–291.
- Rollyson, W. D. *et al.* (2014) 'Bioavailability of capsaicin and its implications for drug delivery', *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V., 196, pp. 96–105.
- Ryu, W. K. *et al.* (2017) 'Rapid determination of capsaicinoids by colorimetric method', *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), pp. 798–803.
- Sabela, M. I. *et al.* (2016) 'Electrochemical sensing platform amplified with a nanobiocomposite of L-phenylalanine ammonia-lyase enzyme for the detection of capsaicin', *Biosensors and Bioelectronics*, 83, pp. 45–53.
- Saha, S. *et al.* (2015) 'Capsaicinoids, tocopherol, and sterols content in chili (*Capsicum* sp.) by gas chromatographic-mass spectrometric determination', *International Journal of Food Properties*. Taylor & Francis, 18(7), pp. 1535–1545.
- Schmidt, A. *et al.* (2017) 'Quantitation of capsaicinoids in different chilies from Austria by a novel UHPLC method', *Journal of Food Composition and Analysis*. Elsevier, 60(December 2016), pp. 32–37.
- Scoville, W. L. (1912) 'Note on Capsicums', *The Journal of the American Pharmaceutical Association* (1912), 1(5), pp. 453–454.
- Sganzerla, M. *et al.* (2014) 'Fast method for capsaicinoids analysis from *Capsicum chinense* fruits', *Food Research International*. Elsevier Ltd, 64, pp. 718–725.

Stoica, R.-M. *et al.* (2016) 'Extraction and analytical methods of capsaicinoids - a review', *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, 20, pp. 93–98.

Velíšek, J. and Hajšlová, J. (2009) *Chemie potravin II*. Tábor: OSSIS.

Využití hmotnostní spektrometrie při identifikaci a kvantifikaci nezáměrně přidávaných látek v obalech potravin

Application of mass spectrometry in identification and quantification of non-intentionally added substances in food packaging

Vápenka L., Mrlík M.

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

Souhrn

Práce se zabývá bezpečností obalů potravin se zaměřením na nezáměrně přidávané látky (NIAS) v plastových obalech potravin. Publikovány jsou výsledky analýzy vzorků obalových materiálů vyrobených z polyethylenu s cílem identifikovat a stanovit obsah NIAS v těchto materiálech. Ve vzorcích byly identifikovány látky, které mohou být považovány za NIAS, jejich obsah byl nízký, řádově méně než 1 mg/kg obalového materiálu u většiny látek, největší obsah byl tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfátu (3,93 mg/kg). Dále jsou porovnány čtyři extrakční činidla (aceton, dichlormethan, hexan a isopropanol) z hlediska jejich vhodnosti pro stanovení NIAS, nejlepších výsledků bylo dosaženo při použití acetonu nebo dichlormethanu.

Summary

This work examines the safety of food packaging with a focus on non-intentionally added substances (NIAS) in plastic food packaging. Experiments are focused on the analysis of samples of packaging materials made of polyethylene and NIAS content in these materials. Substances that can be considered as NIASs were identified in the samples. Content of NIAS was low, less than 1 mg/kg of packaging material in most cases. The highest content was found for tris(2,4-di-tert-butylphenyl)phosphate (3,93 mg/kg). Four extraction agents (acetone, dichloromethane, hexane and isopropanol) are compared for their suitability for NIAS determination, the best results were obtained using acetone or dichloromethane.

Klíčová slova: hmotnostní spektrometrie, nezáměrně přidávané látky

Úvod

Nezáměrně přidávané látky (tzv. NIAS z anglického „non-intentionally added substances“) jsou poměrně širokou a různorodou skupinou látek různého původu (např. produkty degradace látek v obalu, nečistoty vstupních surovin a další), seznam těchto látek není nikde v legislativních předpisech uveden a nejsou pro ně stanoveny ani závazné

limity. Respektive je pro ně nepřímo stanoven jednotný specifický migrační limit 10 µg/kg vyplývající z nařízení č. 10/2011. [1]

Identifikace a kvantifikace těchto látek ve vzorcích obalů potravin je tak tématem, které je v současné době řešeno. Vhodnou technikou pro analýzu NIAS je hmotnostní spektrometrie (MS), zejména ve spojení s chromatografií (plynovou (GC) nebo kapalinovou (LC)). [2]

Právě analýzou těchto látek se zabývá tato práce. Látky obsažené v obalech potravin lze klasifikovat dle různých kritérií, jedním z možných je rozdělení na záměrně a nezáměrně přidávané látky.

Záměrně přidávané látky jsou označovány IAS (z anglického „intentionally added substances“) a jsou to ty látky, které výrobce cíleně použil. Příkladem jsou monomery (základní stavební jednotky výsledných polymerů, např. ethylen při výrobě polyethylenu, vinylchlorid pro produkci PVC apod.), přídatné látky (zlepšují vlastnosti produktu nebo materiálu během výroby), barviva, katalyzátory iniciujících polymeraci, rozpouštědla a další. [3]

Nezáměrně přidávané látky, tzv. NIAS (z anglického „non-intentionally added substances“) výrobce nepoužil cíleně, ale přesto se v obalech nacházejí. Mohou být různého původu, např. nečistoty vstupních surovin nebo vedlejší produkty reakcí záměrně prováděných při výrobě. NIAS můžou pocházet z různých zdrojů, lze je rozdělit do několika skupin: produkty degradace, nečistoty vstupních látek, nově vzniklé látky a kontaminanty. [3, 4]

Při posuzování vlivu NIAS na lidské zdraví je hraniční hodnota molekulové hmotnosti 1000 Da. Tato hranice je volena s ohledem na resorpci látek z trávicího traktu, kdy látky s vyšší molekulovou hmotností nejsou resorbovány. Z tohoto důvodu je pozornost zaměřena na látky s molekulovou hmotností stejnou nebo nižší. [5]

Testované materiály

Testované materiály byly na bázi polyolefinů, jednalo se o různá víčka z polyethylenu vysoké hustoty s tloušťkou od 300 do 500 µm, fólie z polyethylenu nízké hustoty s různými povrchovými úpravami (metalocenová, vodivostní vrstva, atd.) i bez nich s tloušťkou od 30 do 100 µm. Testováno bylo celkem 20 materiálů (5 víček a 15 fólií). K testovaným materiálům byla výrobcí dodána dokumentace s výčtem IAS použitých při jejich výrobě.

Extrakce vzorků a analýza NIAS

Pro semikvantifikaci (přibližný odhad obsahu látek v obalu) byly vybrány tyto látky jako vnitřní standardy: tridekan, 4,4'-difluorobifenyl, 3-terc-butyl-4-hydroxyanisol a 2-ethylhexyl-difenyl fosfát.

Vzorky folií byly nastříhány na části cca 1×1 cm, a poté byly naváženy (2 g) do varných baněk. Do jednotlivých varných baněk bylo v digestoři odměřeno 100 ml jednoho z extrakčních činidel: dichlormethan, aceton, hexan (pro všechny analyzované obaly), isopropanol. Poté se pod zpětným chladičem baňky zahřívaly na topném hnízdě. Zahřívání baněk bylo ukončeno po jedné hodině od začátku varu. Po vychladnutí byly z baněk části folií vyjmuty. Spolu s extrakcí vzorků byly připraveny totožným způsobem i slepé pokusy pro všechny extrakční činidla.

Pro přípravu extraktů k měření na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí (GC-MS) byla baňky s extrakty umístěny na rotační vakuovou odparku a odpařeny do sucha za účelem zakoncentrování analytů z extraktu.

Do každé baňky bylo po odpaření rozpouštědla odměřeno 2 ml směsného roztoku vnitřních standardů. Přídavkem směsných standardů se rozpustily odparky, které byly poté přefiltrovány přes nylonové stříkačkové mikrofiltry do vialek a připraveny tak pro GC-MS analýzu.

GC-MS analýza byla provedena za těchto podmínek: energie elektronové ionizace 70 eV, teplota 280 °C; kapilární kolona DB-5ms s předkolonou (specifikace viz výše); mobilní fáze - helium, průtok $1,0 \text{ ml} \cdot \text{ml}^{-1}$, lineární rychlost $36,0 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$; nástřik vzorku - splitless, teplota nástřiku 290 °C; teplotní program pece - začátek 60 °C po dobu 5 minut, nárůst rychlostí $10 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ na 325 °C a výdrž při této teplotě po dobu 20 minut.

Výsledky

V následujícím textu budou uvedeny sloučeniny, které byly v analyzovaných extraktech identifikovány.

Antioxidant okta-decyl-3-(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)propanoát (Irganox 1076; CAS 2082-79-3) je záměrně použitou látkou se SML (6 mg/kg), je uveden v dokumentaci výrobce a byl identifikován v extraktech při použití kteréhokoliv z extrakčních činidel. Kromě Irganoxu 1076 byl ve všech extraktech nalezen 7,9-di-terc-butyl-1-oxaspiro[4.5]deka-6,9-dien-2,8-dion (CAS 82304-66-3), látka neuvedená v pozitivním seznamu v nařízení (EU) č. 10/2011, jež by mohla být degradačním produktem Irganoxu 1076. Jones a kol. popsali laboratorní syntézu těchto oxaspirocyclických sloučenin. Z fenolů vznikaly působením singletového kyslíku peroxoderiváty (reakce probíhaly v prostředí kyslíku a viditelného záření, za laboratorní teploty, 16-48 hodin), následně z peroxoderivátů vznikly oxaspirocyclické sloučeniny (zvýšená teplota 50 °C, 2 hodiny), mimo jiné i právě 7,9-di-terc-butyl-1-oxaspiro[4.5]deka-6,9-dien-2,8-dion, syntetizovaný z methyl-3-(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)propanoátu. Liang a kol. syntetizovali stejnou látku z oktyl-3-(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)propanoátu, kdy celá reakce proběhla za laboratorní teploty po dobu 12 hodin [6, 7]. Byly identifikovány další dvě spirosloučeniny, jednak 1',4',2,6,6-pentamethyl-spiro-1-(cyklohex-2-en)-2'-(5'-oxabicyklo[2.1.0]pentan) ve všech extraktech a v isopropanolu 1,5,9,9-tetramethyl-spiro[3.5]nonan-5-ol. Látky nebyly zahrnuty v dokumentaci, ani nejsou v pozitivním seznamu. Původ těchto NIAS není jasný.

Významné látky z hlediska množství ve všech extraktech, avšak nedeklarované výrobcem, byly tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfit (Irgafos 168; CAS 31570-04-4), uveden v pozitivním seznamu bez SML a tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfát (CAS 95906-11-9), jenž není v pozitivním seznamu. Fosfit jakožto IAS je často používaný antioxidant v materiálech na bázi polyolefinů, fosfát jakožto NIAS vzniká jako degradační produkt oxidací fosfitu, jak uvádí i Carrero a kol. [8].

Výrobcem deklarovaný antioxidant tris(nonylfenyl)-fosfit, látka se SML 30 mg/kg, nebyl v žádném z extraktů identifikován, pravděpodobně kvůli nízké koncentraci použité při výrobě obalového materiálu. S tímto antioxidantem je spojován vznik alkylfenolů (nonylfenol a oktylfenol), které jsou zkoumány vzhledem k možné hormonální aktivitě (viz kapitola **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**). Přítomnost alkylfenolů ve vzorku taktéž nebyla zjištěna.

2,4-di-terc-butylfenol (CAS 96-76-4) označovaný také Prodox 146 byl zjištěn ve třech extraktech (v acetonu, dichlormethanu a isopropanolu). Tento fenol není v pozitivním seznamu uveden jako samostatná látka, jsou v něm ale uvedeny látky, jejichž struktura má navázanou 2,4-di-terc-butylfenylovou skupinu (nebo několik takových skupin). Příkladem je i výše popsáný tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfit. Lze tak usuzovat, že 2,4-di-terc-butylfenol je NIAS, který vzniká degradací tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfitu, jenž je IAS.

Dalšími identifikovanými fenoly byly 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)fenol (CAS 140-66-9) a 2-methyl-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)fenol (CAS 2219-84-3), oba nalezené ve všech extraktech a 4-(1,1-dimethylpropyl)fenol (CAS 80-46-6) obsažený v hexanu a isopropanolu. Tyto látky nejsou výrobcem deklarovány ani nejsou v pozitivním seznamu. Při procházení dokumentace a naměřených dat se nabízí, že látky mohou pocházet jako nečistoty tří sloučenin, které mají navázaný terc-butylfenol (resp. di-terc-butylfenol). Dvě z nich jsou výše diskutované (Irganox 1076 a tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfit), třetí je ethylenglykol-bis[3,3-bis(3-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)butanoát] (CAS 32509-66-3) se SML 6 mg/kg. Druhou uvažovanou možností je vznik ze strukturně podobné látky 2,6-di-terc-butyl-4-methylfenolu (BHT; CAS 128-37-0), který je uveden v seznamu, používá se jako antioxidant. Pro BHT je stanovený SML 3 mg/kg, není uveden v dodané dokumentaci, ani nebyl detekován v žádném z extraktů. Možnou cestou kontaminace vzorků touto látkou tak může být použití recyklovaných materiálů, obsahujících BHT. Tato sloučenina navíc patří mezi schválené přídatné látky, označovaný jako E 321, kdy je používána jako antioxidant v tucích a olejích. [9]

Všechny extrakty obsahovaly lubrikant oleamid (Adogen 73; (Z)-oktadec-9-enamid; CAS 301-02-0), jenž nebyl uveden v dokumentaci dodané výrobcem, avšak je v pozitivním seznamu bez stanoveného konkrétního SML, a tak lze usuzovat, že se jedná o IAS. To stejné platí o dokosanamidu (ve všech extraktech; CAS 3061-75-4) a (Z)-dokos-13-enamidu (erukamidu; v acetonu, dichlormethanu a isopropanolu; CAS 112-84-5). Ale (E)-dokos-13-enamid (v acetonu a hexanu; CAS 10436-09-6) není v pozitivním seznamu uveden, jedná se tedy o NIAS, možný původ může být z jeho Z-izomeru, buď jako jeho nečistota již na vstupu do výroby obalového materiálu nebo z něj může vznikat

až během výroby, jelikož cis-alkeny (Z-izomery) jsou obecně méně termodynamicky stabilní než trans-alkeny (E-izomery). Avšak pokud by izomeroval (Z)-dokos-13-enamid během výroby, tak by se nabízelo předpokládat i izomeraci (Z)-oktadec-9-enamid na E-izomer, ten ale nebyl detekován v žádném z extraktů. [10, 11]

Mezi výrobcem deklarovanými látkami jsou N,N-bis(2-hydroxyethyl)alkyl (C8–C18)aminy se SML 1,2 mg/kg, v extraktech (aceton a isopropanol) byl zjištěn obsah 2-[2-hydroxyethyl(oktadecyl)amino]ethanol (CAS 10213-78-2), jenž patří mezi výše uvedené aminy, tedy se jedná o IAS.

Extrakty (dichlormethan, hexan a isopropanol) obsahovaly diisooktyl ftalát (CAS 27554-26-3), v hexanu byl navíc butyl-8-methylnonyl ftalát (CAS 89-18-9), tyto látky výrobce neuvádí, ani nejsou v pozitivním seznamu. Povolenou látkou je izomer diisooktyl ftalátu: bis(2-ethylhexyl)-ftalát (CAS 117-81-7) se SML 1,5 mg/kg, výrobce jej v dokumentaci neuvádí (ani žádný jiný ftalát), v nařízení (EU) č. 10/2011 jsou pro něj navíc uvedeny specifické podmínky použití (změkčovaadlo v materiálech pro opakované použití určené pro beztukové potraviny). Původ ftalátů ve vzorku může být z recyklovaného materiálu, Coulier et al. popsali migraci bis(2-ethylhexyl)-ftalátu z recyklovaného HDPE (viz kapitola **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**). Možná je také kontaminace z vnějšího prostředí, ftaláty mohou pocházet z různých zdrojů, např. dětských hraček či podlahových krytin. Marie et al. popisují ftaláty jako ubikvitní environmentální kontaminant. Je možné uvažovat nad kontaminací z laboratorního náčiní a ochranných pomůcek, jako jsou jednorázové rukavice. [12, 13] Vzhledem ke strukturní podobnosti diisooktyl ftalátu a bis(2-ethylhexyl)-ftalátu je možné uvažovat o chybné identifikaci pomocí knihovny hmotnostních spekter, což ale nic nemění na faktu, že jsou ve vzorku estery kyseliny ftalové přítomny.

V dokumentaci poskytnuté výrobcem byli mimo látky se SML také uvedeny tzv. „dual use additives“, tedy látky mimo výroby obalů potravin také přímo přidávané do potravin, na něž se vztahuje zvláštní legislativa. Výrobcem uvedené „dual use additives“ nebyly analýzou na GC-MS zjištěny, což není překvapující vzhledem k chemické povaze většiny deklarovaných látek (např. oxid hořečnatý, oxid křemičitý či kyselina citronová).

Ve dvou extraktech (aceton a isopropanol) byl zjištěn obsah L-askorbyl-palmitátu (CAS 137-66-6), který je uveden v pozitivním seznamu bez SML a také v nařízení (EU) č. 1333/2008, o potravinářských přídatných látkách, jako E304(i). Výrobce neposkytl informace o použití této látky v obalovém materiálu, z tohoto důvodu je považována za NIAS. V nařízení (EU) č. 1333/2008 jsou stanoveny maximální množství L-askorbyl-palmitátu v potravinách určených pro zvláštní výživu – v kojenecké výživě je stanovený limit 10 mg/kg (resp. 10 mg/l). [9]

Dále byl identifikován 1,3-diisopropylnaftalen (CAS 57122-16-4; v acetonu, hexanu a isopropanolu), látka neuvedená v pozitivním seznamu a nezahrnutá v dokumentaci od výrobce. Co se týče obalů potravin, diisopropylnaftaleny byly opakovaně popsány ve vzorcích papírových obalů potravin, v ČR Vápenka a kol. analyzovali obalové materiály na bázi papíru. Ve většině vzorků byl nalezen 2,7-diisopropylnaftalen a 2,6-

diisopropylnaftalen, které mohou pocházet z tiskařských barev či z minerálních olejů. Původ 1,3-diisopropylnaftalenu ve vzorku 014/2018/1 a obecně v plastových obalech není jasný. [14, 15]

Další látkou, u které lze těžko určit původ v obalu je benzešrol (chemestrogen; 4,4'-(3-ethylhexan-2,4-diyl)difenol), jenž byl obsažen ve všech extraktech. Benzešrol patří mezi syntetická estrogenní léčiva, kdy tyto látky byly předepisovány těhotným ženám pro ochranu plodu. Pozdější výzkumy zjistili spojitost s podáváním těchto látek (zejména jiného léčiva z této skupiny – diethylstilbestrolu (DES)) ženám v těhotenství a následným vznikem onkologických onemocnění jejich dcer. [16, 17] Otázkou je původ této látky. Pro potvrzení či vyvrácení obsahu benzešrolu ve vzorku by bylo nutné zakoupit jeho standard a změřit jej za stejných podmínek pro porovnání. [18]

Dalšími látkami detekovanými ve vzorku byli fluorované a bromované sloučeniny. U fluorovaných látek lze tušit jejich původ, výrobce deklaroval použití difluoro-1,1-ethylen (CAS 75-38-7) a hexafluorpropylen (CAS 116-15-4), v extraktech byly například identifikovány látky: dotriakontyl heptafluorobutanoát (v acetonu, dichlormethanu a isopropanolu) a oktatriakontyl pentafluoropropanoát (v dichlormethanu a isopropanolu). Žádná z látek uvedených v dokumentaci neobsahovala ve své struktuře brom, a proto není znám jejich původ. Je možné uvažovat o nich jako o kontaminaci produktu, ke které mohlo dojít například použitím recyklovaného materiálu. Příklady bromovaných látek: 1-bromtriakontan (ve všech extraktech; CAS 4209-22-7) a 2-bromhexanová kyselina (v acetonu, dichlormethanu a isopropanolu; CAS 18263-25-7)

Závěr

Na základě výsledků diskutovaných v této práci lze vyslovit následující závěry:

- Při analýze vzorků byly zjištěny látky, které nebyly uvedeny v dokumentaci dodané výrobcem obalových materiálů, některé nebyly ani v pozitivním seznamu v nařízení (EU) č. 10/2011 a mohou být považovány za NIAS. Jedná se o širokou skupinu látek, u některých lze jejich přítomnost předpokládat (např. degradační produkty záměrně použitých antioxidantů), u jiných je predikce obtížná (např. nečistoty vstupních látek, kontaminace z recyklovaných surovin).
- V současné době neexistuje legislativní předpis obsahující seznam potenciálních NIAS, ani nejsou stanoveny jejich limity pro obsah v obalech či limity jejich migrace do potravin (respektive simulantů potravin). Obsah identifikovaných NIAS byl nízký, řádově méně než 0,5 mg/kg obalového materiálu u většiny látek, maximální obsah byl zjištěn 3,93 mg/kg u látky tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfát. Tento obsah v polymeru by mohl vést k překročení všeobecného SML 10 µg/kg potravin pro látky neuvedené na pozitivním seznamu nařízení č. 10/2011.
- Při porovnání použitých extrakčních činidel bylo nejlepších výsledků (počet a množství NIAS) dosaženo při použití acetonu a dichlormethanu. Některé NIAS byly identifikovány pouze v jednom z těchto dvou extrakčních rozpouštědel, proto by pro

další práci mohlo být vhodné použít při analýze jejich směs a nahradit tak souběžnou extrakci v různých činidlech.

Literatura

- [1] Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. *Úřední věstník Evropské unie* **2011**, L 12/1.
- [2] Gómez Ramos, M. J.; Lozano, A.; Fernández-Alba, A. R., High-resolution mass spectrometry with data independent acquisition for the comprehensive non-targeted analysis of migrating chemicals coming from multilayer plastic packaging materials used for fruit purée and juice. *Talanta* **2019**, 191, 180-192.
- [3] Koster, S.; Bani-Estivals, M. H.; Bonuomo, M.; Bradley, E.; Chagnon, M. C.; Garcia, M. L.; Godts, F.; Gude, T.; Helling, R.; Paseiro-Losada, P.; Pieper, G.; Rennen, M.; Simat, T.; Spack, L., Guidance on Best Practices on the Risk Assessment of Non Intentionally Added Substances (NIAS) in Food Contact Materials and Articles. ILSI Europe Report Series.: Brussels, Belgium, **2015**. <http://ilsa.org/publication/guidance-on-best-practices-on-the-risk-assessment-of-non-intentionally-added-substances-nias-in-food-contact-materials-and-articles/> (citováno 9. 1. 2020).
- [4] Nerin, C.; Alfaro, P.; Aznar, M.; Domeño, C., The challenge of identifying non-intentionally added substances from food packaging materials: A review. *Analytica Chimica Acta* **2013**, 775, 14-24.
- [5] Piringer, O.-G.; Baner, A. L., *Plastic Packaging Materials for Food: Barrier Function, Mass Transport, Quality Assurance, and Legislation*. 1st ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, Germany, 2000.
- [6] Jones, K. M.; Hillringhaus, T.; Klussmann, M., A singlet oxygen approach to oxaspirocycles. *Tetrahedron Letters* **2013**, 54 (25), 3294-3297.
- [7] Liang, Y.-F.; Wu, K.; Liu, Z.; Wang, X.; Liang, Y.; Liu, C.; Jiao, N., CsOH catalyzed aerobic oxidative synthesis of p-quinols from multi-alkyl phenols under mild conditions. *Science China Chemistry* **2015**, 58 (8), 1334-1339.
- [8] Carrero, J.; Oliva, V.; Navascués, B.; Borrull, F.; Galià, M., Determination of antioxidants in polyolefins by pressurized liquid extraction prior to high performance liquid chromatography. *Polymer Testing* **2015**, 46, 21-25.
- [9] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách
- [10] McMurry, J., *Organická chemie*. 1 ed.; VŠCHT: Praha, p 1270.
- [11] Farajzadeh, M. A.; Ebrahimi, M.; Ranji, A.; Feyz, E.; Bejani, V.; Matin, A. A., HPLC and GC Methods for Determination of Lubricants and Their Evaluation in Analysis of Real Samples of Polyethylene. *Microchimica Acta* **2006**, 153 (1/2), 73-78.
- [12] Coulier, L.; Orbons, H. G. M.; Rijk, R., Analytical protocol to study the food safety of (multiple-)recycled high-density polyethylene (HDPE) and polypropylene (PP) crates: Influence of recycling on the migration and formation of degradation products. *Polymer Degradation and Stability* **2007**, 92 (11), 2016-2025.

- [13] Marie, C.; Vendittelli, F.; Sauvant-Rochat, M.-P., Obstetrical outcomes and biomarkers to assess exposure to phthalates: A review. *Environment International* **2015**, 83, 116-136.
- [14] Vápenka, L.; Vavrouš, A.; Votavová, L.; Kejlová, K.; Dobiáš, J.; Sosnovcová, J., Contaminants in the paper-based food packaging materials used in the Czech Republic. *Journal of Food and Nutrition Research* **2016**, 55 (4), 361-373.
- [15] Mariani, M. B.; Chiacchierini, E.; Gesumundo, C., Potential migration of Diisopropyl naphthalenes from recycled paperboard packaging into dry foods. *Food Additives & Contaminants* **1999**, 16 (5), 207-213.
- [16] Adam, E.; Decker, D. G.; Herbst, A. L.; Noller, K. L.; Tilley, B. C.; Townsend, D. E., Vaginal and Cervical Cancers and Other Abnormalities Associated with Exposure in Utero to Diethylstilbestrol and Related Synthetic Hormones. *American Association for Cancer Research* **1977**, 37, 1249-1251.
- [17] Sestili, M. A., Genital Tract Anomalies and Cancer in Females Exposed in Utero to Diethylstilbestrol. *Public Health Reports* **1977**, 22 (5), 481-484.
- [18] Hájková, K.; Pulkrabová, J.; Schůrek, J.; Hajšlová, J.; Poustka, J.; Nápravníková, M.; Kocourek, V., Novel approaches to the analysis of steroid estrogens in river sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, 387 (4), 1351-1363.

Kontaktní adresa: vapenka@vscht.cz

Potravinové podvody a ich kľúčové faktory

Food fraud key factors

Peter Zajác, Jozef Čapla, Jozef Golian, Lucia Benešová, Ľubomír Belej

Abstrakt:

Predchádzanie potravinovým podvodom a znižovanie zraniteľnosti prevádzkovateľov potravinárskych podnikov a štátu v dôsledku týchto podvodov vyžaduje komplexné znalosti zahŕňajúce procesy vykonávané v prvovýrobe, spracovateľských podnikoch, potravinárskych firmách, distribučných a logistických firmách. Medzi ďalšie aspekty, ktoré je potrebné brať do úvahy patria technické možnosti, čas a priestor na realizáciu falšovania, ekonomické faktory, kultúrne a sociálne faktory ako aj kultúru manažmentu. Keďže tieto podvody vznikajú s určitým úmyslom, ich odhaľovanie vyžaduje inú taktiku. Dôležité sú aj informácie o prípadoch falšovania, ktoré sa vyskytli v minulosti.

Kľúčové slová: *falšovanie potravín, zraniteľnosť*

Abstract:

Preventing food fraud and reducing the vulnerability of food businesses as a result of such fraud requires comprehensive knowledge, including processes carried out in primary production, processing plants, food businesses, distribution and logistics companies. Other aspects that need to be taken into account include technical possibilities, time and space for counterfeiting, economic factors, cultural and social factors, as well as management culture. Since these frauds arise with some intent, their detection requires a different tactic. Information about counterfeiting cases that have occurred in the past is also important.

Keyword: *food fraud, vulnerability*

ÚVOD

Potravinové podvody, falšovanie potravín a potravinová kriminalita sú pojmy, ktoré sa v tlači často opakovane objavujú. Globálna iniciatíva pre bezpečnosť potravín (GFSI) a Európska Komisia (EK) definujú falšovanie potravín ako úmyselné a klamlivé, nepravdivé vyhlásenie o potravinách s cieľom finančného zisku (**Spink, Ortega, Chen a Wu, 2017**). Potravinové podvody sa vykonávajú najčastejšie z ekonomických dôvodov a na ich vykonanie slúžia rôzne spôsoby falšovania potravín. Pri potravinových podvodoch sa môžeme stretnúť s nepravdivými informáciami, ktoré sa uvádzajú priamo na etiketách potravín, veľkospotrebitel'ských baleniach a logistických jednotkách, ďalej v sprievodných dokladoch a často aj v sfalšovaných certifikátoch, prehláseniach výrobcu a protokoloch o laboratórnych skúškach. Často dochádza k manipulácii s potravinami a náhrade cennej zložky za menej cennú alebo k deklarácii inej kvality potravín než je ich skutočná kvalita. Tieto činnosti sa vykonávajú predovšetkým z ekonomických dôvodov

za účelom maximalizácie zisku na úkor obchodného partnera, konečného spotrebiteľa a štátu v ktorom sa uplatňuje vratka z dane z pridanej hodnoty a daňová povinnosť. Potravinové podvody majú dopad na celé hospodárstvo a je možné sa s nimi stretnúť v rámci šedej ekonomiky.

ZRANITEĽNOSŤ

Zraniteľnosť v dôsledku potravinových podvodov ovplyvňujú najmä tieto aspekty:

- príležitosť (priaznivá a vhodná okolnosť, chvíľa, situácia, predmet a cieľ falšovania),
- motivácia (motív, pohnútky alebo súbor činiteľov, ktoré usmerňujú správanie páchatel'a, alebo ho podnecujú k nejakej trestnej činnosti na dosiahnutie určitého, najmä ekonomického cieľa) a
- kontrolné opatrenia (dozor, dohľad, kontrola, inšpekcia, zisťovanie ako aj vykonávanie laboratórnych činností za účelom odhalenia falšovania).

Tieto aspekty je možné ďalej rozdeliť do šiestich skupín (**van Ruth, Huisman a Luning, 2017**):

- technické možnosti,
- čas a miesto,
- ekonomické faktory,
- kultúrne a sociálne faktory,
- technické kontrolné opatrenia,
- manažérske kontrolné opatrenia.

Technické možnosti:

Technické možnosti určujú ako ľahko je možné falšovať určité druhy potravín. V súčasnej informačnej dobe existuje všeobecná dostupnosť znalostí o potravinárskych technológiách a spôsoboch falšovania konkrétnych druhov potravín v konkrétnom potravinárskom segmente. Na trhu je možné si zaobstaráť vhodné strojno-technologické zariadenia ako aj technologické postupy priamo od dodávateľov zariadení. Existuje preto predpoklad, že existujúca technológia môže byť zneužitá za účelom falšovania potravín, čím sa zvyšuje riziko zraniteľnosti.

Výrobky v špecifickom stave ako sú napr. kvapaliny (**Jack, 2015**) sú náchylnejšie na falšovanie ako ostatné potraviny.

Potreba použitia viacerých analytických metód zvyšuje náročnosť odhalenia podvodu (**Moyer, DeVries, A Spink, 2017; Pustjens, Weesepeel, A van Ruth, 2015**).

Komplexnosť potravín alebo surovín a prirodzená variabilita ich zloženia v rámci odrôd, druhov a ročných období vplývajú na presnosť a správnosť laboratórneho výsledku.

Čas a miesto:

Prípady podvodov sa zvyšujú, keď majú potenciálni podvodníci legitímny prístup k miestu, kde sa podvod môže vykonať, t. j. majú priamy prístup spracovateľským linkám a produktu v skladoch (**Benson a Simpson, 2009**).

Príležitosti na falšovanie sa zvyšujú aj vtedy, keď je páchatel priestorovo oddelený od obete (**Benson a Simpson, 2009**), to znamená, že prevádzka nie je pod priamou kontrolou odberateľa.

Riziko podvodov zvyšuje aj zložitosť dodávateľského reťazca a zníženie transparentnosti logistickej siete (**Sarpong, 2014**), kde za účelom zlepšenia konkurencieschopnosti obchodníka môže dochádzať k manipulácii s obchodovaným tovarom alebo k jeho zámene za iný tovar. V minulosti boli zaevidované prípady falšovania značkových výrobkov ich napodobneninami.

Ekonomické faktory:

Medzi ekonomické faktory vedúce k potravinovým podvodom patria napríklad ponuka tovarov a ich cena, špeciálne vlastnosti produktu, ktoré zvyšujú jeho pridanú hodnotu, rozdiely v cenách v rôznych krajinách, rôzna výška dane z pridanej hodnoty v jednotlivých krajinách, ekonomické zdravie podnikov, úroveň hospodárskej súťaže a finančné zaťaženie dodávateľov.

Kultúrne a sociálne faktory:

Medzi kultúrne a sociálne faktory patria napríklad podnikateľská stratégia, etická kultúra v oblasti obchodu, predchádzajúca trestná činnosť a úroveň korupcie v krajinách, v ktorých spoločnosti pôsobia.

Technické kontrolné opatrenia:

Proti falšovaniu potravín je možné uplatniť rôzne technické kontrolné opatrenia (tvrdé kontroly), ktoré znížia riziko zraniteľnosti. Môže sa jednať o:

- neohlásenú inšpekciu u prevádzkovateľov potravinárskych podnikov v čase prevádzky ako aj mimo prevádzkových hodín zameranú na kontrolu vykonávania procesov, osobnej a prevádzkovej hygieny, produktov.
- laboratórne vyšetrovanie vzoriek potravín odobratých z prevádzok prevádzkovateľov potravinárskych podnikov, distribučnej siete, veľkoobchodných a maloobchodných prevádzok,

Za účelom plánovania kontrolných opatrení je možné uplatniť analýzu rizík a na jej výsledku sa zamerať sa na skutočne rizikové potraviny a procesy. Pri analýze rizík je

možné použiť vedecké údaje, predchádzajúce vedomosti, historické údaje a konkrétne informácie o aktuálnych prípadoch falšovania (**Luning et al., 2009**).

Ako kontrolné mechanizmy je možné aplikovať systematické plány odberu vzoriek prichádzajúcich surovín, medziproduktov a finálnych výrobkov, výkon laboratórnej diagnostiky prostredníctvom spoľahlivých a citlivých validovaných laboratórnych metód, ktorých výsledkom sú presné a správne výsledky.

Dôležitý je aj systém dokumentácie a vedenia záznamov o takýchto kontrolách. Takéto mechanizmy zvýšia pravdepodobnosť odhaľovania falšovaných produktov a potravinových podvodov (**Everstine, Spink a Kennedy, 2013**).

K odhaleniu podvodov môžu prispieť aj informácie a údaje pochádzajúce priamo z technologických liniek (**Everstine et al., 2013; Manning a Soon, 2014**). Ako príklad je možné uviesť automatizované systémy kontroly hmotnosti (in-line váhy), snímače počtu kusov, optické zariadenia s fotografickou rekogníciou obalov a etikiet, značkovacie zariadenia, ktoré je možné umiestniť priamo na dopravné pásy technologickej linky a dáta automaticky odosielať zákazníčkovi.

Technické kontrolné opatrenia ovplyvňuje špecifickosť a presnosť systému monitorovania.

Systematický a autonómny monitoring, prípadne verifikácia, spoľahlivý informačný systém, spoľahlivý a robustný systém vysledovateľnosti produktu smerom ku konečnému zákazníkovi ako aj smerom od zákazníka späť k jednotlivým dodávateľom, výrobcovi a dodávateľom jednotlivých surovín sú vhodnými nástrojmi na elimináciu falšovania potravín.

Pomocou funkčného systému vysledovateľnosti je možné zabrániť alebo úplne odstrániť nezákonnú manipuláciu so surovinami a potravinami (**Charlebois a Haratifar, 2015**).

Manažérske opatrenia:

Manažérske opatrenia (mäkké kontroly) sú najmä preventívne opatrenia vykonávané za účelom predchádzania zraniteľnosti. Typické manažérske opatrenia, ktoré je možné implementovať na úrovni spoločností sú etické kódexy správania sa, náboženské požiadavky, audity za účelom kontroly integrity systému manažérstva bezpečnosti potravín a zmluvných záväzkov. Požiadavky na implementáciu a certifikáciu systémov manažérstva bezpečnosti potravín ako sú ISO 22000, FSSC 22000, BRC, IFS a pod. Na úrovni dodávateľského reťazca sú to najmä zmluvné požiadavky s dodávateľmi, ktoré sú osobitne venované kvalite potravín a podvodom. V praxi je možné vykonávať pasívny a aktívny monitoring výrobného procesu, procesu skladovania, prepravy a logistických operácií ako aj samotných produktov prostredníctvom rôznych technických zariadení, napr. kamier, fotografií, RFID čipov, NFC čipov, monitoringu GPS koordinátov pohybujúcich sa paliet a logistických jednotiek.

Na úrovni štátov je možné uplatniť právne predpisy Európskeho spoločenstva, vnútroštátne právne predpisy ako aj bilaterálne a multilaterálne zmluvy a dohody medzi jednotlivými štátmi. Patrí sem aj normatívna činnosť za účelom vytvárania štandardov kvality jednotlivých potravín a štandardov pre aplikáciu metód laboratórnej diagnostiky a metrológie. Ako príklad je možné uviesť UNECE normy a EHK normy kvality. Veľmi dôležitá je úroveň úradnej kontroly potravín v jednotlivých členských štátoch EÚ a legislatívne požiadavky na jej výkon.

Zdroje informácií

Pokiaľ ide o históriu potravinových podvodov, je vhodné disponovať informáciami o tom, aké druhy potravín sa falšovali v minulosti a akými spôsobmi. Pri týchto potravinách a surovinách je nutné zvýšiť frekvenciu rôznych kontrol.

Európska únia vytvorila Centrum vedomostí pre potravinové podvody a kvalitu (Knowledge Centre for Food Fraud and Quality), ktoré vedie prehľad informácií o falšovaní potravín v jednotlivých členských štátoch EÚ (EC, 2019).

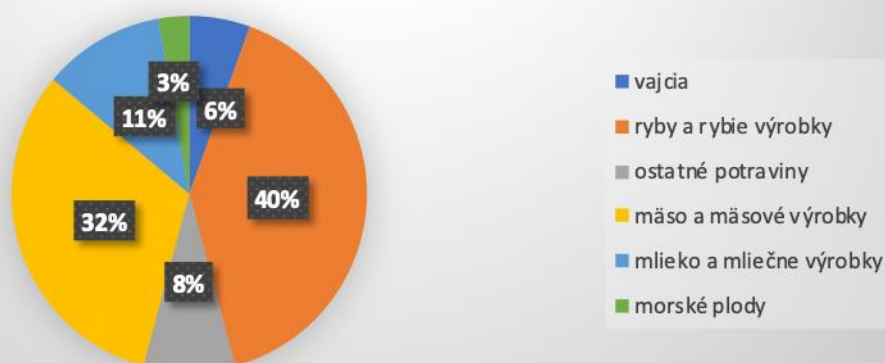
Z dostupných informácií je možné definovať štruktúru potravinových podvodov v EÚ. V roku 2018 bola štruktúra nasledovná: 6% prípadov predstavovalo umelé vylepšenie potravín, 7% imitácia, 33% zmena označenia, 11% maskovanie pôvodu, 24% výrobky nevhodné na spotrebu, 1% pašovanie a 18% náhrada cennej zložky.

V roku 2018 bolo zastúpenie jednotlivých druhov potravín na potravinových podvodoch nasledovné: 6% vajcia a výrobky z vajec, 40% ryby a rybie výrobky, 8% ostatné potraviny, 32% mäso a mäsové výrobky, 11% mlieko a mliečne výrobky a 3% morské plody.



Zdroj: zostavené z dát zverejnených Európskou Komisiou (EC, 2019).

Prehľad falšovaných druhov potravín v EÚ v roku 2018



Zdroj: zostavené z dát zverejnených Európskou Komisiou (EC, 2019).

ZÁVER

Zraniteľnosť v dôsledku potravinových podvodov pramení z príležitosti, motivácie a úrovne kontrolných opatrení. Potravinové podvody závisia aj od technických možností, príležitosti v čase a mieste, ekonomických faktorov, kultúrnych a sociálnych faktorov, technických kontrolných opatreniach a manažérskych kontrolných opatreniach. Potravinové podvody sa vyskytujú s rôznou frekvenciou prakticky v každom členskom štáte EÚ a na ich predchádzanie je možné uplatniť nástroje mäkkej alebo tvrdej kontroly vo všetkých stupňoch výroby a spracovania u jednotlivých prevádzkovateľov potravinárskych podnikov. Pri odhaľovaní potravinových podvodov je možné použiť rôzne informácie zverejnené v rýchlom výstražnom systéme RASFF, portáloch úradných kontrol potravín jednotlivých členských štátov EÚ ako aj informácií publikovaných Európskou Komisiou.

LITERATÚRA

1. Benson, M. L., Simpson, S. S. (2009). *White collar crime: An opportunity perspective (criminology and justice studies)*. New York: Routledge.
2. Charlebois, S., Haratifar, S. (2015). The perceived value of dairy product traceability in modern society: An exploratory study. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 3514-3525.
3. EC, 2019. European Commission. Knowledge Centre for Food Fraud and Quality. Available at: https://ec.europa.eu/knowledge4policy/food-fraud-quality_en
4. Everstine, K., Spink, J., Kennedy, S. (2013). Economically motivated adulteration (EMA) of food: Common characteristics of EMA incidents. *Journal of Food Protection*, 4, 560-735.

5. Jack, L. (2015). *Risk modelling of food fraud motivation: 'NSF fraud protection model' intelligent risk model scoping project FS 246004: Final report*. London: Food Standards Agency.
6. Manning, L., Soon, J. M. (2014). Developing systems to control food adulteration. *Food Policy*, 49, 23-32.
7. Moyer, D. C., DeVries, J. W., Spink, J. (2017). The economics of a food fraud incident - case studies and examples including melamine in wheat gluten. *Food Control*, 71, 358-364.
8. Pustjens, A. M., Weesepeel, Y., van Ruth, S. M. (2015). Chapter 5: Food fraud and authenticity: Emerging issues and future trends. In C. Leadley (Ed.), *Innovation and future trends in food manufacturing and supply chain technologies* (pp. 3-20). Cambridge: Woodhead Publishing.
9. Sarpong, S. (2014). Traceability and supply chain complexity: Confronting the issues and concerns. *European Business Review*, 26(3), 271-284.
10. Spink, J., Ortega, D. L., Chen, C., Wu, F. (2017). Food fraud prevention shifts the food risk focus to vulnerability. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 215-220.
11. Van Ruth, S. M., Huisman, W., Luning, P. A. (2017). Food fraud vulnerability and its key factors. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 70-75.

Pod'akovanie:

"Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508".

Kontaktná adresa: Ing. Peter Zajác, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: peter.zajac@uniag.sk



VITAVE is a family-run company focused on developing and implementing contemporary food processing solutions for industry and the scientific community. Flexibility and versatility are fundamental to the modular design of our products, and our enthusiasm for innovation ensures we will meet your individual needs.



FOOD DEHYDRATOR

Our food dehydrator systems guarantee excellent end products with lower energy consumption for greater profitability and customer satisfaction.



PEF SYSTEM

We deliver exceptional PEF technology designed to save you time, money and effort, so you can focus on achieving your most daring goals.

contact@vitave.com

VITAVE Tech s.r.o.
Modletice 80
251 01 Modletice

Sborník příspěvků

Food technology, food quality Nové trendy v úchově potravin

Vydala:	Vysoká škola chemicko-technologická v Praze Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice
Editoři:	Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl
Rok vydání:	2020
Počet stran:	174
ISBN	978-80-7592-061-4

-
- ⁱ Surwase G. et al. (2014): Research Trends on Food Preservation: A Scientometric Analysis. *Journal of Library & Information Technology*, 34: 257–264.
- ⁱⁱ SZIF Program rozvoje venkova. Podopatření Podpora vývoje nových produktů, postupů a technologií při zpracování zemědělských produktů a jejich uvádění na trh. Dostupné z: <https://www.szif.cz/cs/prv2014-1622> (citováno 4. 2. 2020).
- ⁱⁱⁱ Hiperbaric High Pressure Processing. Applications. Dostupné z: <https://www.hiperbaric.com/en/applications> (citováno 4. 2. 2020).
- ^{iv} UGO Blog. Paskalizace aneb jak na šťávy, které vydrží, a mají vitamínů jako čerstvé. Dostupné z: <http://ugo.cz/p/paskalizace-aneb-jak-na-stavy-ktere-vydrzi-a-maji-vitaminu-jako-cerstve> (citováno 4. 2. 2020).
- ^v Gimenez-Escalante P., Rahimifard S. (2016): Innovative food technologies for redistributed manufacturing. figshare. Report. Dostupné z: https://repository.lboro.ac.uk/articles/Innovative_food_technologies_for_redistributed_manufacturing/9577187 (citováno 4. 2. 2020).
- ^{vi} Amit S.K. et al. (2017): A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture & Food Security*, 6, 51: 1–22.
- ^{vii} Jambrak A. R. et al. (2018): Three Pillars of Novel Nonthermal Food Technologies: Food Safety, Quality, and Environment. *Journal of Food Quality*, 1–18.
- ^{viii} Chemat F. et al. (2017): Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41: 357–377.
- ^{ix} Saroya H. K. (2017): Innovative Non-Thermal Food Processing Technologies Used By The Food Industry In The United States. Masters Theses & Specialist Projects. Paper 2028. Dostupné z: <http://digitalcommons.wku.edu/theses/2028> (citováno 4. 2. 2020).