

Středoškolská odborná činnost

Falšování potravin

Markéta Pitrová

Brno 2014

Středoškolská odborná činnost

Obor SOČ: 7. Zemědělství, potravinářství, lesní a vodní hospodářství

Falšování potravin

Autor: Markéta Pitrová

Škola: Gymnázium Brno-Řečkovice

Konzultant: MVDr. Olga Cwíková, Ph.D.

RNDr. Kateřina Cibulková

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci vypracovala samostatně, použila jsem pouze podklady (literaturu, internetové stránky, atd.) citované v práci a uvedené v příloženém seznamu a postup při zpracování práce je v souladu se zákonem č.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v plném znění.

Poděkování

Děkuji své externí konzultantce MVDr. Olze Cwиковé, Ph.D., a interní konzultantce RNDr. Kateřině Cibulkové za cenné rady, podnětné připomínky k mé práci a velkou trpělivost. Děkuji také RNDr. Aleně Ansorgové, Ph.D., za pomoc v laboratoři. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat Jihomoravskému centru pro mezinárodní mobilitu za finanční podporu mé práce.



Anotace

Práce se zabývá v současnosti velice aktuálním tématem, kterým je falšování potravin. V teoretické části je zpracována historie, způsoby falšování a dopady na lidské zdraví. Dále jsou zde popsány základní metody, kterými se nekvalitní potraviny odhalují. V praktické části je ověřována kvalita masných výrobků a medů běžně dostupných v obchodních řetězcích v České republice.

Klíčová slova

falšování potravin; kvalita medu; masné výrobky; med

Annotation

The work deals with the contemporary very topical theme, the adulteration of food. The theoretical part deals with the history, methods of adulteration and impacts on human health. It also describes the basic methods by which the food of poor quality is being reveal. In the practical part is being verify the quality of meat products and honey commonly available in commercial chains in the Czech Republic.

Keywords

adulteration of food; quality of honey; meat products; honey

Obsah

1 Úvod	8
2 Literární přehled	8
2.1 Falšování potravin	8
2.2 Historie	9
2.3 Zdravotní rizika	10
2.4 Výzkumná pracoviště zabývající se autenticitou potravin	10
2.5 Masné výrobky	11
2.5.1 Falšování masných výrobků	11
2.5.2 Parametry pro posuzování kvality potravin	11
2.6 Med	12
2.6.1 Falšování medu	12
2.6.2 Charakteristika medu	13
2.6.3 Jakostní požadavky	13
2.7 Metody detekce falšování	14
2.7.1 Imunochemické metody	14
2.7.2 Fyzikálně-chemické metody	16
2.7.3 Elektroforéza	17
2.7.4 Molekulárně biologické metody	20
3 Cíl práce	22
4 Materiál a metody	23
4.1 Stanovení kreatininu (čistá svalová bílkovina)	23

4.1.1	Materiál	23
4.1.2	Použité chemikálie	23
4.1.3	Použité přístroje a pomůcky	23
4.1.4	Postup	24
4.2	Stanovení přítomnosti drůbežího masa metodou ELISA	27
4.2.1	Materiál	27
4.2.2	Použité pomůcky	27
4.2.3	Postup	27
4.3	Důkaz porušení medu škrobovým sirupem, škrobovým cukrem a sladovými výtažky	28
4.3.1	Materiál	28
4.3.2	Použité chemikálie	28
4.3.3	Použité pomůcky	28
4.3.4	Postup	28
5	Výsledky a diskuse	29
5.1	Stanovení čisté svalové bílkoviny	29
5.2	Stanovení přítomnosti drůbežího masa	30
5.3	Důkaz porušení medu škrobovým sirupem, škrobovým cukrem a sladovými výtažky	33
6	Závěr	35
	Seznam použité literatury a internetových zdrojů	36
	Seznam citací	38

Seznam obrázků	39
Seznam tabulek	40
Seznam příloh	41

1 Úvod

Odhalování falšovaných potravin a ochrana zájmů spotřebitele jsou poslední dobou předmětem rostoucího zájmu nejen obchodních organizací, ale i široké veřejnosti. „Z dosavadních poznatků ve světě vyplývá, že četnost falšování potravin je nepřímo úměrná podmínkám prostředí, zejména ochranným opatřením organizovaným státem či jinými nestátními mechanismy.“ [1] Cílem falšování je především snaha výrobce ošidit spotřebitele na kvalitě výrobku nebo stát o příslušnou daň, a tím získat ekonomickou výhodu oproti konkurenci. Mezi nejčastěji falšované komodity patří zejména luxusní potraviny (lihoviny, víno, 100% instantní káva, koření) nebo naopak potraviny prodávané ve větším množství (masné a mléčné výrobky, tuky a rostlinné oleje, ovocné šťávy, sušené vaječné těstoviny). Ve své práci jsem se zaměřila na falšování medu a masných výrobků – stanovení čisté svalové bílkoviny a přítomnosti drůbežního masa, jež není deklarována na obalu.

2 Literární přehled

2.1 Falšování potravin

Slovo falzifikace neboli falšování pochází z latinského výrazu *falzum*, což může být v českém jazyce chápáno jako napodobenina, padělek nebo podvrh. Falzifikace tedy česky znamená padělání či napodobování.

Hlavními způsoby falšování potravin jsou:

1. Záměrný přídavek jiné, a to buď levnější nebo dostupnější látky do potraviny, která částečně nebo úplně nahradí původní často drahou surovinu:
 - přídavek sójového oleje do olivového,
 - přídavek cukru do medu,
 - náhrada masa v masných výrobcích (jiný druh masa i přídavky rostlinného či živočišného původu),
 - přídavek kávových slupek nebo cereálií do kávy.

2. Záměrný přídavek aditiv, které maskují skutečnou kvalitu nebo původ potraviny:
 - barvení bílého vína na červené,
 - barvení nebo aromatizace méně kvalitních výrobků.
3. Použití jiné než deklarované technologie výroby:
 - vydávání obyčejného oleje za olej lisovaný za studena,
 - vydávání řezaných destilátů za pravé destiláty.
4. Zneužití známé značky potraviny:
 - záměna ročníků a druhů kvalitních vín,
 - používání obalů, etiket a názvů připomínajících známou značku.
5. Záměrné klamavé označení potraviny, týkající se jejího složení, původu a stáří či odrůdy a obchodního názvu.

Jednoznačná klasifikace je někdy obtížná, protože mezi vyjmenovanými typy falšování existuje celá řada kombinací. Stejně tak ani Zákon o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb. pojem „falšovaná potravina“ či „falšování“ přímo nedefinuje. Podle § 10 tohoto zákona je však zakázáno „*uvádět do oběhu potraviny klamavě označené. Falšování potravinářských výrobků lze v konečném důsledku považovat právě za klamavé označování, protože zákon č. 634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele, přímo v § 8 říká, že nikdo nesmí klamat spotřebitele, zejména uvádět nepravdivé, nedoložené, neúplné, nepřesné, nejasné, dvojsmyslné nebo přehnané údaje anebo zamlčet údaje o skutečných vlastnostech výrobků, služeb či úrovni nákupních podmínek. Ten, kdo se takového jednání dopouští, si je zpravidla vědom klamavého charakteru či nedostatečnosti informace poskytované spotřebiteli.*“ [2]

2.2 Historie

Falšování potravin není jen „fenomémem“ současnosti. Podle historických záznamů bylo ve větší či menší míře prováděno i v minulosti, navíc ve významně zdraví škodlivější podobě. Tomu také odpovídaly tehdejší tresty.

Nepoctiví pražští pekaři ve středověku byli mácháni v koši ve Vltavě a za falšování piva tehdy dokonce hrozil trest smrti. V našich zemích bylo ještě v Potravním kodexu platném do roku 1948 definováno a zakázáno falšování jednotlivých potravin (např. přidávání mouky do uzenářských výrobků). Byla zde definována zdravotní nezávadnost potravinářských výrobků stejně jako používané suroviny, technologické postupy i nutriční hodnota.

2.3 Zdravotní rizika

Přestože se ve většině případů jedná „jen“ o prodej méně kvalitního výrobku za vyšší cenu, může mít neuvážené falšování i zdravotní dopady na spotřebitele. Příkladem je náhrada některých složek toxickými látkami, např. použití diethylenglykolu na zvýraznění chuti vína, naředění rostlinných olejů minerálním olejem nebo přídavek melaminu¹ do mléčných výrobků. Známa je aféra z roku 2008, kdy bylo otravou zfalšovaným sušeným mlékem obsahujícím melamin postiženo na 300 000 čínských dětí, z nichž nejméně 6 dětí zemřelo a další desítky až stovky dětí mají dlouhodobé nebo doživotní následky. V České republice proběhla poměrně nedávno tzv. methanolová aféra, která si do října 2013 vyžádala 47 mrtvých. Pro citlivější skupiny spotřebitelů, jako jsou malé děti nebo alergici, je např. nebezpečná i nedeklarovaná přítomnost levnějšího kravského mléka v sójových nápojích nebo nedeklarovaná přítomnost burských ořechů ve zmrzlině nebo čokoládě.

2.4 Výzkumná pracoviště zabývající se autenticitou potravin

Falšování potravin je věnována pozornost jak ze strany médií, tak i státních orgánů. Falšováním, popř. vývojem technologií pro detekci falšování se zabývají četná výzkumná pracoviště:

- Výzkumný ústav potravinářský Praha (falšování olejů, instantní kávy, másla, rozlišení UHT mléka a sterilovaného mléka)
- Ústavy FPBT VŠCHT Praha (falšování výrobků z ovoce a zeleniny, falšování masa a masných výrobků, falšování olejů atd.)

¹Melamin=organická sloučenina využívaná při výrobě umělých hmot a průmyslových hnojiv

- Státní veterinární ústav Jihlava (falšování masa)
- Výzkumný ústav mlékárenský, Milcom a.s. (falšování mléka a mléčných výrobků)
- Výzkumný ústav včelařský Dol, s.r.o. (falšování včelího medu)
- Výzkumný ústav cukrovarnický, a.s. (pravost rafinovaného cukru)

2.5 Masné výrobky

2.5.1 Falšování masných výrobků

Masné výrobky obecně obsahují kromě čistého masa (svaloviny jatečných zvířat) i koření a řadu aditiv, která jsou ve výrobcích tradiční a mají své oprávnění z hlediska údržnosti i technologických vlastností.

Výrobci ale ve snaze ušetřit často nahrazují maso levnějšími nebo dostupnějšími surovinami (kůže, mechanicky separované maso, bramborová vláknina, sójové bílkoviny, mouka, škrob). To může mít za následek bizarní chuť, změnu textury nebo chování výrobku při zpracování.

Dalšími způsoby falšování masných výrobků je záměna živočišných druhů, nedostatečné vysušení trvanlivých salámů nebo všeobecné zakrytí vad např. přídavkem koření či barviv.

2.5.2 Parametry pro posuzování kvality potravin

2.5.2.1 Aktivita vody

Kvalita masných výrobků se posuzuje podle několika parametrů. Jedním z nich je např. aktivita vody. „*U trvanlivých masných výrobků (jedná se o např. salámy vysočina či poličan) je povolena hodnota aktivity vody (a_w) maximálně 0,93, pokud je hodnota vyšší, výrobek se může jevit jako málo vysušený. Výrobky s nízkou aktivitou vody jsou méně náchylné ke kažení způsobenému mikroorganismy a plísněmi.*“ [3]

2.5.2.2 Čistá svalová bílkovina

Specifickým jakostním parametrem masných výrobků je obsah čisté svalové bílkoviny (ČSB), kterému se mimo jiné věnuji ve své práci.

Čistá svalová bílkovina je bílkovina, která neobsahuje pojivovou tkáň ani bílkoviny rostlinného původu. Její obsah se dá určit stanovením koncentrace kreatininu. Kreatinin je cyklická dusíkatá látka vznikající katabolismem kreatinu² a kreatinofosfátu³. Po chemické stránce se jedná o cyklický imid kreatinu se sumárním vzorcem $C_4H_7N_3O$. Minimální obsah ČSB, který musí výrobky obsahovat, je daný zákonem u výrobků vysočina, turistický trvanlivý salám, selský salám, poličan, lovecký salám, dunajská klobása, paprikáš a herkules.

2.5.2.3 Třídy jakosti šunek

„Podle platné vyhlášky se šunky řadí do tří tříd jakosti podle obsahu čisté svalové bílkoviny (ČSB), a to standardní (nejméně 10 % hmot.), výběrová (nejméně 13 % hmot.) a nejvyšší jakosti (nejméně 16 % hmot.). Do výběrové šunky a šunky nejvyšší jakosti se navíc nesmí přidávat vláknina, škrob, rostlinná bílkovina a jiné živočišné bílkoviny.“ [3]

2.6 Med

2.6.1 Falšování medu

Problematika kvality a autenticity medu je v současné době také velmi aktuální. Důvodem levných a často ne zcela kvalitních medů ze zemí mimo Evropskou unii dochází k poškozování nejen spotřebitelů, ale i vyspělého českého včelařství. Od r. 2005 do r. 2010 byly zaznamenány tyto případy falšování medu:

- přidavek látek na bázi sacharidů do medu (řepného nebo třtinového cukru, sirupů vyrobených hydrolyzou škrobu atd.)

²Kreatin=dusíkatá organická kyselina (kyselina N-methylguanidinooctová, sumární vzorec $C_4H_9N_3O_2$)

³Kreatinofosfát=vysokoenergetická forma kreatinu obohacená o fosfátovou skupinu (N-methyl-N-(fosfonokarbamimidoyl)glycin)

- záměna medovicového a nektarového medu
- prodej umělého medu (aromatizované cukerné roztoky)
- záměna botanického a geografického původu medu

Aktuální jsou případy záměny geografického původu, které jsou významné vzhledem k nálezům antibiotik v medech z Číny.

Pro spotřebitele je důležitý i botanický původ medu, a to jak z pohledu chuti, vůně, tak vzhledem k cenám medu. Méně hodnotné nebo směsné medy jsou totiž často vydávány za hodnotnější nebo žádanější, např. akátový nebo lipový med. Pro identifikaci botanického původu se tradičně používá mikroskopické posouzení pylových zrn.

2.6.2 Charakteristika medu

Podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 76 ze dne 6. března 2003, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony, ve znění vyhlášky č. 43 ze dne 11. ledna 2005 se medem rozumí *„potravina přírodního sacharidového charakteru, složená převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (Apis mellifera), které sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech.“* [4] Med je však častým cílem falšování nepovoleným přídavkem cukrů, který bývá případně dobarvován potravinářským barvivem E150d (karamel).

2.6.3 Jakostní požadavky

Požadavky na kvalitu medu definuje vyhláška č. 76/2003 Sb.

1. Do medu nesmí být přidány, s výjimkou jiného druhu medu, žádné jiné látky včetně přídavných látek.
2. Z medu nesmí být odstraněn pyl ani jakákoli jiná složka, s výjimkou případů, kdy tomu při odstraňování cizích látek, zejména filtrací, nelze zabránit.

3. Med, s výjimkou pekařského (průmyslového) medu, nesmí:
 - mít jakékoliv cizí příchutě a pachy,
 - začít kvasit nebo pěnit,
 - být zahřát do takové míry, že jeho přirozené enzymy jsou zničeny nebo se stanou neaktivní.
4. U medu nesmí být uměle změněna kyselost.
5. Filtrovaný med a pekařský (průmyslový) med nesmí být přidáván do jiných medů uvedených v § 8.

Více než 90 % cukrů přírodního medu je tvořeno glukózou a fruktózou, proto pro falšovatele není výhodné přidávat do medu sacharózu (třtinový nebo řepný cukr), které většina medů obsahuje maximálně 5 %. Zvýšená koncentrace sacharózy v medu je navíc velice snadno odhalitelná jednoduchou metodou HPLC s refraktometrickou detekcí. „Zkušenější“ falšovatelé tedy spíše napodobují přirozené složení medu přidáním glukózo-fruktózových sirupů, které vyrábí tepelnou, kyselou nebo enzymatickou hydrolýzou (rozkladem) třtinové nebo řepné sacharózy (jedná se o tzv. invertní cukry), enzymatickou hydrolýzou kukuřičného škrobu apod. K prokázání přídavku monosacharidových sirupů už jednoduchá analýza základních cukrů v medu nestačí.

2.7 Metody detekce falšování

2.7.1 Imunochemické metody

Imunochemické metody jsou založeny na použití protilátek jako „specifických“ vazebných činidel. Pomocí imunochemických metod lze stanovit v původním biologickém materiálu řadu cizorodých látek (např. farmaka nebo toxické látky), látky tělu vlastní, látky infekčního původu nebo specifické protilátky vzniklé na nějaký imunologický podnět. Při těchto metodách jsou do organismu vpraveny antigeny⁴. Antigeny poté stimulují tvorbu protilátek, lymfokinů, regulačních a výkonných T-lymfocytů, čímž navodí imunitní odpověď.

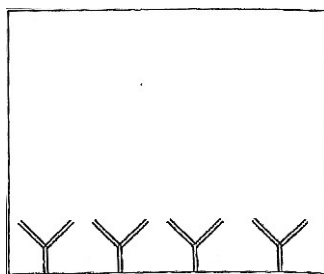
⁴Antigen= makromolekulární látka přirozeného nebo umělého původu, kterou imunitní systém rozpozná jako cizí látku

Dvěma nepoužívanějšími technikami jsou ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) a EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay Technique) [3].

2.7.1.1 ELISA

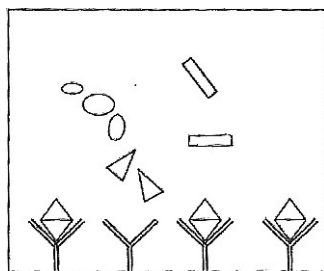
Je to metoda založená na specifické vazebné reakci mezi antigenem a protilátkou. Nejvíce používanou metodou ELISA pro stanovení antigenů je nekompetitivní ELISA (tzv. sendvičová technika), kdy jsou na detekovaný antigen navázány 2 protilátky – imobilizovaná a enzymaticky značená. Průběh metody sendvičové ELISA se dá shrnout v několika krocích.

1. Na povrch testovací jamky jsou adsorbovány protilátky specifické pro cílový antigen.



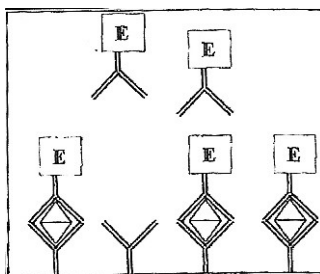
Obrázek 1: Krok 1 [1]

2. Do testovací jamky se přidá vzorek potravin. Antigeny se začnou vázat na specifické protilátky. Následným promýváním se odstraní zbytky vzorku a nenavázané antigeny.



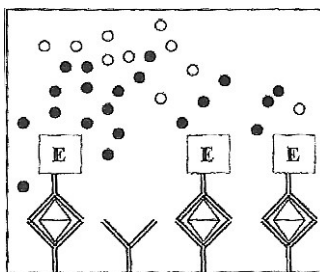
Obrázek 2: Krok 2 [1]

3. Do jamky se přidají protilátky značené enzymem, které se váží na antigen a vytváří „sendvič“. Následným promýváním se odstraní nenavázané značené protilátky.



Obrázek 3: Krok 3 [1]

4. Do jamky se přidá substrát. Enzym způsobí přeměnu substrátu na barevný produkt.



Obrázek 4: Krok 4 [1]

Vyhodnocení výsledků se provádí vizuálně nebo spektrofotometry.

Imunochemické metody se z hlediska detekce falšování používají na identifikaci sójových proteinů v mléčných a masných výrobcích, na stanovení specifických složek v cereáliích nebo na druhové rozlišení masa.

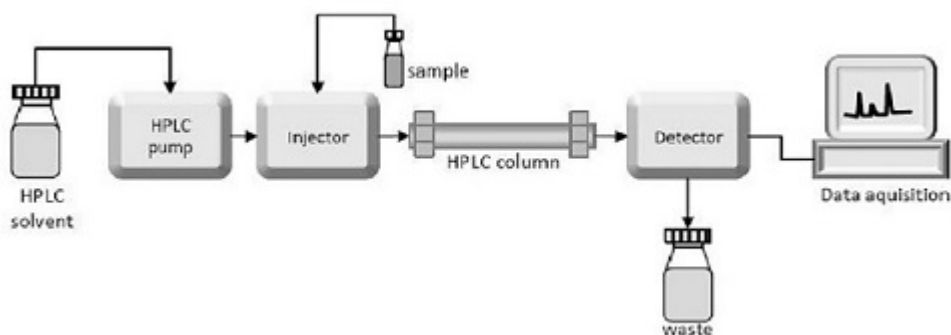
2.7.2 Fyzikálně-chemické metody

2.7.2.1 Kapalinová chromatografie

Tato chromatografická metoda slouží k separaci vzorku, a to buď za účelem stanovení jeho přítomnosti a koncentrace ve vzorku nebo k izolaci jednotlivých složek.

Nejvýznamnější metodou kapalinové chromatografie je technika HPLC. Zkratka je odvozena od dvou možných názvů této techniky a to „high performance liquid chromatography“ (vysokoúčinná kapalinová chromatografie) nebo „high pressure liquid chromatography“ (vysokotlaká kapalinová chromatografie).

HPLC analýza se provádí na přístroji, který se nazývá kapalinový chromatograf. Vzorek prochází mobilní fází (kterou je v tomto případě kapalina), která se pohybuje celým chromatografickým systémem do stacionární fáze, kde dochází k jeho separaci. Stacionární fází je film příslušné látky zakotvený na povrchu nosiče nebo pevný adsorbent.



Obrázek 5: Průběh HPLC analýzy [2]

Výsledkem HPLC analýzy je chromatogram. Pokud je analyzovaná směs dobře rozdělena, pak každé složce směsi odpovídá jeden pík. Poloha píku uváděná pomocí retenčního času⁵(určeného podle polohy vrcholu) určuje, o jakou látku se jedná (kvalitativní analýza), plocha píku určuje koncentraci látky ve směsi (kvantitativní analýza).

Kapalinovou chromatografii lze využít na rozlišení druhů ovoce (analýza barviv), druhů pšenice nebo druhů masa, na detekci falšování medu nebo přísadků sušeného mléka do pasterovaného.

2.7.3 Elektroforéza

Princípem elektroforézy je využití rozdílné pohyblivosti nabitých částic k jejich separaci. Elektroforéza spočívá v přenosu elektricky nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Toto elektrické pole se vytváří vkládáním konstantního stejnosměrného napětí mezi elektrody.

⁵Retenční čas=čas, který složka potřebuje k průchodu chromatografickým systémem

2.7.3.1 Izoelektrická fokusace (IEF)

Tato metoda slouží k separaci amfolytů⁶. Ty mohou existovat ve formě kladné, záporné i neutrální částice. Na to, v jaké podobě se nacházejí, má zásadní vliv pH prostředí. Vzorek se aplikuje na skleněnou desku, která je pokryta akrylamidovou pryskyřicí nebo agarem.

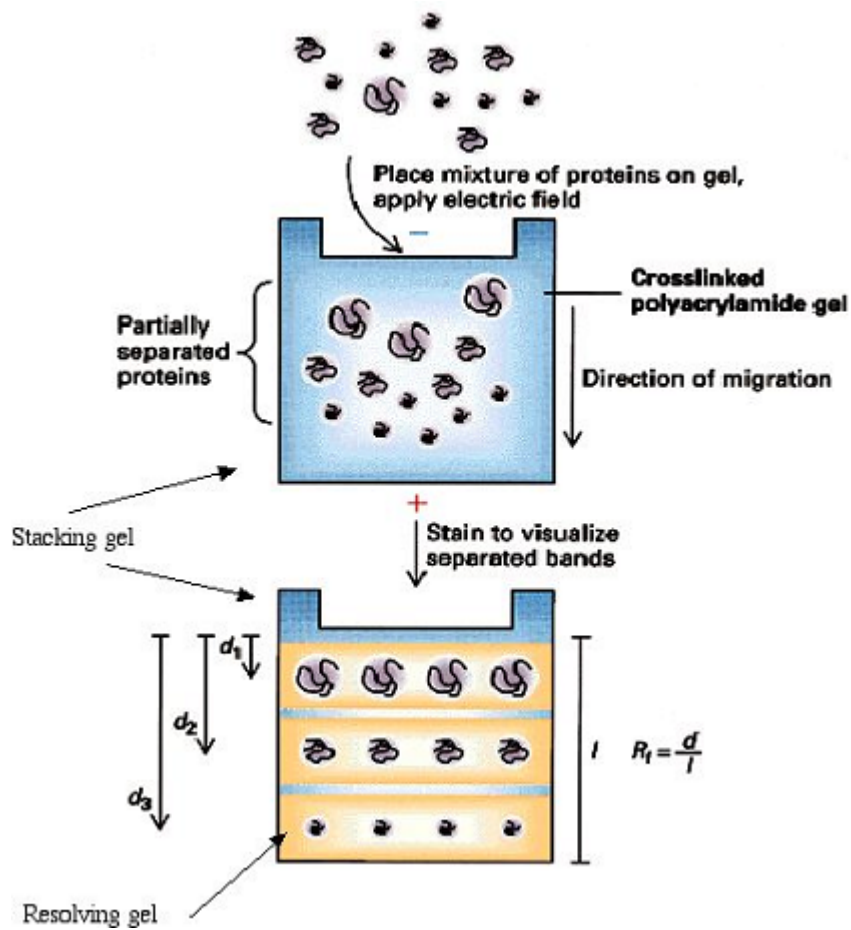
Tato vrstva je napuštěná soustavou tlumivých roztoků tak, aby se na desce pH měnilo rovnoměrně od jednoho konce na druhý. Kladný pól se připojí na konec desky s nižším pH. Při elektroforéze se mohou pohybovat pouze nabitě částice. Amfolyt se pohybuje vlivem elektrického proudu ve směru růstu pH až do okamžiku, kdy se dostane do oblasti pH shodné s jeho izoelektrickým bodem⁷. Tam ztratí náboj, zastaví se a koncentruje. Tímto způsobem je možno od sebe oddělit a tak identifikovat sloučeniny, jejichž izoelektrické body se od sebe liší o 0,001 pH jednotky.

2.7.3.2 SDS polyakrylamidová gelová elektroforéza (SDS PAGE)

SDS PAGE slouží k separaci proteinů na základě jejich velikosti (molekulární hmotnosti). Zahřátím vzorku dochází k jeho denaturaci a navázání molekul SDS (dodecylsulfátu sodného), který udělí proteinu vysoký záporný náboj, přímo úměrný jeho hmotnosti. Je to dáno tím, že se SDS váže na proteiny v poměru 1,4 g SDS na 1 g bílkoviny. Po nanesení vzorku na gel a umístění gelu do elektrického pole dochází k migraci proteinů ke kladné elektrodě (anodě). Během této migrace jsou proteiny separovány na principu molekulového síta v polyakrylamidovém gelu (obrázek 6).

⁶Amfolyty=chemické sloučeniny, které ve své molekule obsahují kyselé i zásadité skupiny

⁷Izoelektrický bod=hodnota pH roztoku, při které má amfoterní látka stejný počet kladných i záporných nábojů. Jeho celkový náboj je nulový a proto má i nulovou pohyblivost v elektrickém poli



Obrázek 6: Průběh SDS PAGE [3]

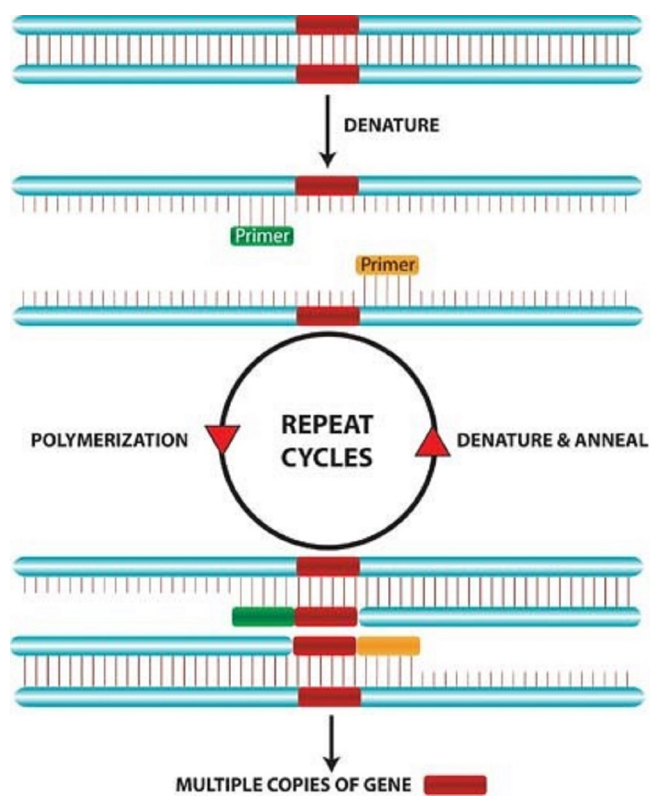
Po následné vizualizaci separovaných proteinů v gelu se dá určit jejich relativní molekulová hmotnost srovnáním délky migrace se standardem o známé molekulové hmotnosti. Koncentrace akrylamidu použitého k přípravě gelu závisí na velikosti proteinů, které chceme separovat. Nízká koncentrace se používá k separaci proteinů o vysoké molekulové hmotnosti, zatímco vysoká koncentrace se používá k separaci proteinů o malé molekulové hmotnosti.

Elektroforéza se využívá na identifikaci odrůd pšenice a ječmene, přídavků kravského mléka do ovčího a kozího nebo druhů tepelně neopracovaného masa.

2.7.4 Molekulárně biologické metody

Nejvýznamnější molekulárně biologickou metodou je polymerázová řetězová reakce. PCR neboli polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction) je metoda, která slouží k získání milionů identických kopií vybraného úseku DNA pomocí enzymu DNA polymerázy a cyklického střídání tří teplotně odlišných kroků. Nejprve dochází k denaturaci DNA vlivem vysoké teploty (92–96°C), při které se jedna dvouřetězcová molekula DNA rozvolní na dvě jednořetězcové. Následně se naváže dvojice primerů, krátkých jednořetězcových molekul, které vymezují množný úsek (annealing) při teplotě 45–65°C.

V posledním kroku probíhá syntéza nových řetězců z volných nukleotidů (dNTP) DNA polymerázou v úseku vymezeném primery. Množení (amplifikace) probíhá v tzv. termálním cyklu.



Obrázek 7: Průběh PCR [4]

PCR patří k nejvíce specifickým metodám při druhové identifikaci masa. Dále se používá na určení kategorie hovězího masa (podle pohlaví), na detekci geneticky modifikovaného materiálu (sója) nebo k odlišení druhu kávy.

3 Cíl práce

Cílem mé práce bylo shrnout historii, způsoby falšování a metody, kterými se nekvalitní výrobky dají odhalit. Konkrétně jsem se zaměřila na med a masné výrobky, a to z důvodu, že patří mezi nejčastěji falšované komodity.

Hlavním cílem však bylo ověření kvality popřípadě odhalení falšování výrobků běžně dostupných na českém trhu a následné porovnání výsledků s případy falšování zaznamenanými v minulém roce.

4 Materiál a metody

4.1 Stanovení kreatininu (čistá svalová bílkovina)

4.1.1 Materiál

V této části práce bylo ověřováno 25 masných výrobků, které byly zakoupeny v obchodních řetězcích běžně zastoupených v České republice. Výrobky pocházely od osmi výrobců, jejichž názvy byly nahrazeny čísly.

4.1.2 Použité chemikálie

- kreatinin bezvodý - standard
- 1-oktansulfonát sodný monohydrát
- kyselina sírová 98% H_2SO_4
- hydroxid sodný (NaOH)

- methanol
- demineralizovaná voda
- pH papírky

4.1.3 Použité přístroje a pomůcky

- kapalinový chromatograf (HPLC) s UV/VIS detektorem
- kolona ZORBAX XDB-C18
- desintegrátor Diax 900
- sušárna na 105 °C
- magnetická míchačka, míchadla
- minitřepačka VORTEX
- analytické váhy

- předvážky
- automatické pipety 1–5 *ml*, 100–1000 μl a 10–100 μl
- mikrostříkačka Hamilton 10 μl
- baňky 100 *ml* se zátkami
- vialky o objemu 1,8 *ml*
- odměrný válec 100 *ml* a 500 *ml*
- odměrné baňky 1000 *ml*, 50 *ml*, 25 *ml* a 10 *ml*
- kádinky 500 *ml*, 250 *ml*, 10 nebo 25 *ml*

4.1.4 Postup

4.1.4.1 Příprava roztoku 30% H_2SO_4

Do odměrky 1000 *ml* byla zhruba do poloviny nalita demineralizovaná voda, do odměrného válce bylo odměřeno 167 *ml* koncentrované kyseliny sírové H_2SO_4 (98%). Kyselina byla pomalu přilévána do odměrky s vodou a průběžně míchána. Nakonec byla odměrka po rysku dolita demineralizovanou vodou a následně promíchána.

4.1.4.2 Příprava roztoku 10M NaOH

Do kádinky bylo naváženo 20 *g* NaOH a přidáno 50 *ml* demineralizované vody. Poté bylo vloženo míchadlo a kádinka byla umístěna na magnetickou míchačku. Roztok byl míchán do úplného rozpuštění.

4.1.4.3 Příprava fosfátového pufru

Do odměrky 1000 *ml* bylo odměřeno 50 *ml* 0,2M KH_2PO_4 a 50 *ml* 0,2M K_2HPO_4 , doplněno po rysku demineralizovanou vodou a promícháno. Poté bylo pomocí pH papírku zkontrolováno pH=4.

4.1.4.4 Příprava mobilní fáze

Do odměrky 500 ml bylo naváženo 0,35 g 1-oktansulfonátu sodného monohydrátu, který byl zalit fosfátovým pufr. Roztok byl poté dolit fosfátovým pufr. po rysku.

4.1.4.5 Kyselá hydrolýza a příprava vzorku

Jednotlivé vzorky masných výrobků byly nakrájeny na malé kousky a zhomogenizovány na desintegrátoru. Do baňky (100 ml) byly naváženy 2 g masného výrobku a poté bylo přidáno 30 ml 30% H_2SO_4 . Baňky byly umístěny do sušárny, kde při teplotě 105 °C probíhala hydrolýza přes noc.

Další den byl obsah baňky po ochlazení převeden do 50 ml odměrky a doplněn po rysku demineralizovanou vodou. Obsah odměrky byl zfiltrován přes papírový filtr. Následně bylo do odměrky 25 ml napipetováno 2,5 ml hydrolyzátu, přidáno 10 ml fosfátového pufru a roztok byl zneutralizován na pH 5–8 pomocí 10M NaOH. Poté byl roztok ochlazen a doplněn fosfátovým pufr. po rysku. Nakonec byl roztok přefiltrován přes membránový filtr 0,45 μm a umístěn do malé vialky.

4.1.4.6 Příprava koncentrovaného standardu a kalibrační řady kreatininu

Do odměrky o objemu 10 ml bylo na analytických vahách naváženo 20 mg kreatininu a byl přidán fosfátový pufr. Výsledný roztok byl protřepán na VORTEXu, po rysku doplněn fosfátovým pufr. a znovu důkladně promíchán (koncentrace roztoku byla 2 mg · ml⁻¹). Jednotlivé kalibrační roztoky byly připravovány do malých vialek (1,8 ml) podle následující tabulky:

Tabulka 1: Poměry složek různě koncentrovaných kalibračních roztoků [1]

<i>V</i> standardu kreatininu	<i>V</i> fosfátového pufru	Výsledná <i>c</i> kreatininu
20 μl	980 μl	40 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$
15 μl	985 μl	30 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$
10 μl	990 μl	20 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$
5 μl	995 μl	10 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$
2,5 μl	997,5 μl	5 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$

Vialky byly uzavřeny a důkladně protřepány. Roztoky byly analyzovány na HPLC.

4.1.4.7 Výpočty

Výpočet rovnice kalibrační přímky a výpočet koncentrací roztoků vzorků byl prováděn v programu ChemStation. Výpočet výsledné koncentrace byl proveden podle následujícího vzorce:

$$cm\left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}}\right) = \frac{c(\mu\text{g}/\text{ml}) \cdot V(\text{ml}) \cdot 10}{m(\text{g}) \cdot 10}$$

cm ... výsledná koncentrace kreatininu ve vzorku

c ... koncentrace kreatininu v roztoku vzorku vypočítaná programem ChemStation z kalibračního grafu

V ... objem odměrky 25 ml

M ... navážka vzorku (čerstvé hmotnosti)

Výpočet obsahu čisté svalové bílkoviny (ČSB) byl proveden podle následujícího vzorce:

$$\check{C}SB\left(\frac{\text{g}}{100\text{g}}\right) = \frac{cm\left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}}\right)}{20}$$

4.2 Stanovení přítomnosti drůbežího masa metodou ELISA

4.2.1 Materiál

Stanovení přítomnosti drůbežího masa bylo prováděno na 24 masných výrobcích opět zakoupených v běžných obchodech. Výrobky pocházely od osmi výrobců, u tří výrobků byl uvedený pouze distributor.

4.2.2 Použité pomůcky

Biokits F.A.S.T. Immunostick Meat Species Screening Kit (Neogen Corporation)



Obrázek 8: ELISA kit [5]

4.2.3 Postup

10 g vzorku bylo vloženo do plastového sáčku a po přidání 100 ml studené vody a byl obsah zhomogenizován. Po 3 minutách bylo 5-6 kapek vzorku přidáno do imunozkumavky. Do 10 minut byla z imunozkumavky vyjmuta tyčinka, která byla následně 10 sekund promývána pod tekoucí vodou. Omytá tyčinka byla vložena do zkumavky s enzymem.

Do 10 minut byla vyjmuta a 30 sekund promývána pod tekoucí vodou. Nakonec byla tyčinka vložena do CDR roztoku⁸ a do 10 minut byly přidány 4 kapky STOP roztoku, který zastavil barevnou reakci. Výsledky byly interpretovány na základě barevné změny.

4.3 Důkaz porušení medu škrobovým sirupem, škrobovým cukrem a sladovými výtažky

4.3.1 Materiál

V této části práce bylo ověřováno 21 výrobků medu zakoupených v supermarketech, na trzích nebo v obchodech zdravé výživy.

4.3.2 Použité chemikálie

- koncentrovaná kyselina chlorovodíková (HCl)
- ethanol (96%)
- tannin⁹ (prášek)

4.3.3 Použité pomůcky

- předvážky
- filtrační papír
- vodní lázeň

4.3.4 Postup

Důkaz byl prováděn Fieheho reakcí II. Nejprve byl připraven roztok z 2 g testovaného medu a 4 ml demineralizované vody. K tomuto roztoku byl přidán tannin (množství na špičku nože), obsah se promíchal a zahřál ve vroucí vodní lázni, až se srazily bílkoviny. Poté byl obsah zkumavky ochlazen a zfiltrován. Ke 2 ml filtrátu byla přidána kapka kyseliny chlorovodíkové, obsah byl promíchán a po stěně doplněn 4 ml ethanolu.

⁸Vybarvovací roztok CDR byl připraven přidáním 1 kapky ABTS koncentrátu do CDR zkumavky

⁹Tannin=rostlinný polyfenol srážející proteiny

5 Výsledky a diskuse

5.1 Stanovení čisté svalové bílkoviny

Cílem bylo zjistit, zda vybrané masné výrobky splňují zákonem daný limit obsahu svalové bílkoviny.

Ve vyhlášce č. 326/2001 Sb. je minimální obsah čisté svalové bílkoviny pro jednotlivé výrobky definován takto:

Tabulka 2: Zákonem stanovený minimální obsah čisté svalové bílkoviny [2]

výrobek	čistá svalová bílkovina (% hmot. nejméně)
vysočina	13
herkules	14
paprikáš	14
poličan	16
lovecký salám	15
šunka standardní	10
šunka výběrová	13

Z obrázku 9 je patrné, že vyhlášce nevyhověly 3 výrobky (v tabulce červeně). Jednalo se o vzorky číslo 10, 23 a 28, tudíž o vysočinu, poličan a lovecký salám. Všechny tyto výrobky pocházely od výrobce č. 3. Ke všem vzorkům byla navíc připočítána rozšířená nejistota¹⁰, která zajistila minimálně 95% spolehlivost měření.

Vzorek č. 18 – paprikáš, rovněž od výrobce č. 3 (v tabulce zeleně) vyhověl vyhlášce až poté, co k němu byla připočtena rozšířená nejistota. Naopak vysočina a poličan (vzorky 8 a 25, v tabulce modře) od výrobce č. 2 nesplnily limit po odečtení rozšířené nejistoty. Přestože jsou tyto tři vzorky pod nebo těsně nad limitem, který vyhláška stanovuje, nelze je považovat za nevyhovující. Za použití rozšířené nejistoty není možné vyjádřit, zda vyhovují limitu a jsou proto brány jako mezní hodnoty.

¹⁰Rozšířená nejistota=udává se v případech, kdy je třeba zajistit větší pravděpodobnost správného výsledku měření; vypočítá se vynásobením směrodatné odchylky koeficientem rozšíření rovnajícího se 2, čímž se zajistí spolehlivost alespoň 95 %

Jako nejkvalitnější výrobek se ukázal lovecký salám výrobce Vocílka, který průměrně obsahoval dokonce o 5% více čisté svalové bílkoviny, než je minimální limit. Vyhlášece vyhověly také testované výrobky společností Krásno, Pikok a Steinhauser. Z konkrétních výrobků nejlépe vyšel herkules, u kterého nebylo zjištěno ani jedno nedodržení požadavku na obsah čisté svalové bílkoviny.

vzorek	výrobce	navazka	koncentrace ($\mu\text{g/ml}$)	R	koncentrace ($\text{mg}/100\text{ g}$)	ČSB	průměr ($\text{mg}/100\text{g}$)	RSD	rozšířená nejistota ($\text{mg}/100\text{g}$)
8a - vysočina	výrobce 2	2,0005	20,57100	5	257,07	12,85	13,04	0,01432	0,37
8b - vysočina	výrobce 2	2,1676	22,93669	5	264,54	13,23			
10a - vysočina	výrobce 1	2,0292	20,49081	5	252,45	12,62	12,56	0,00518	0,13
10b - vysočina	výrobce 1	2,1615	21,60192	5	249,85	12,49			
18a - paprikáš	výrobce 1	2,0292	21,79400	5	268,50	13,43	13,82	0,02863	0,79
18b - paprikáš	výrobce 1	2,0295	23,08230	5	284,33	14,22			
23a - poličan	výrobce 1	2,2115	25,75315	5	291,13	14,56	14,48	0,00542	0,16
23b - poličan	výrobce 1	2,1701	24,99869	5	287,99	14,40			
25a - poličan	výrobce 2	2,0897	27,08715	5	324,06	16,20	16,00	0,01244	0,40
25b - poličan	výrobce 2	2,1186	26,78694	5	316,09	15,80			
28a - lovecký	výrobce 1	2,1216	22,01924	5	259,47	12,97	13,10	0,00983	0,26
28b - lovecký	výrobce 1	2,1009	22,23744	5	264,62	13,23			

Obrázek 9: Výňatek z výsledné tabulky stanovení čisté svalové bílkoviny [6]

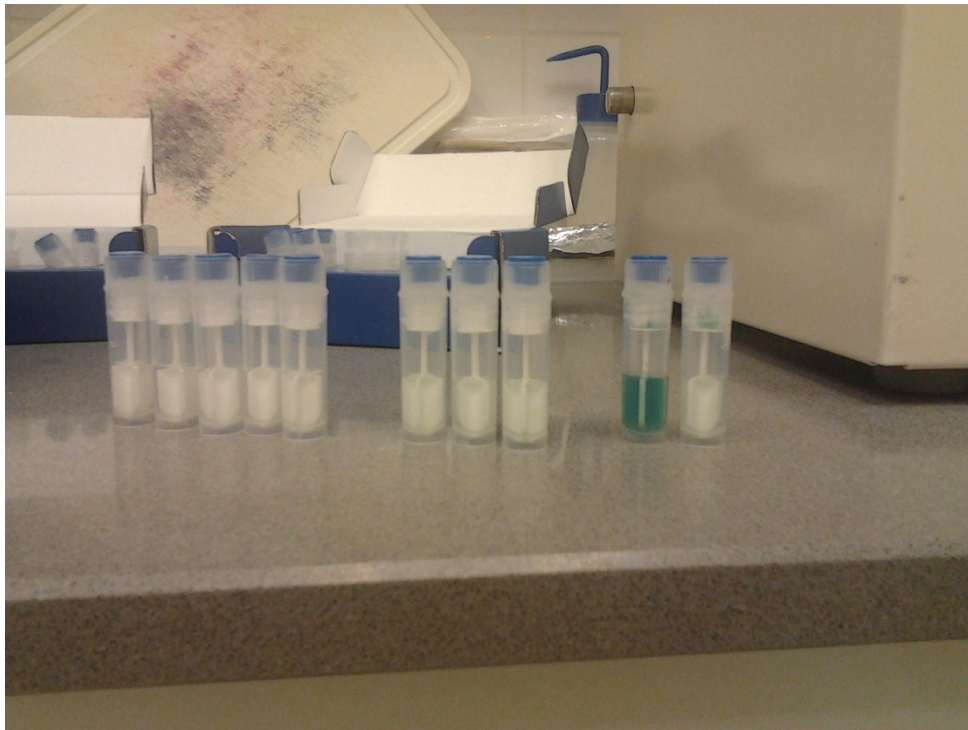
5.2 Stanovení přítomnosti drůbežího masa

Cílem bylo zjistit, zda vybrané masné výrobky neobsahují drůbeží maso, jehož přítomnost není deklarovaná na obalu. Metoda byla nejdříve vyzkoušená na standardu – kuřecí šunkový salám viz obrázek 10.

Z celkového počtu 24 vzorků nevyhověly vyhlášece vzorky č. 1, 5, 6 a 8, tedy šunkový salám, 2 gothajské salámy a vídeňské párky.



Obrázek 10: Výsledek standardu [7]



Obrázek 11: Výsledky metody ELISA (vlevo negativní vzorky, uprostřed a vpravo pozitivní, druhý zprava je standard) [8]

Tabulka 3: Výsledky metody ELISA [3]

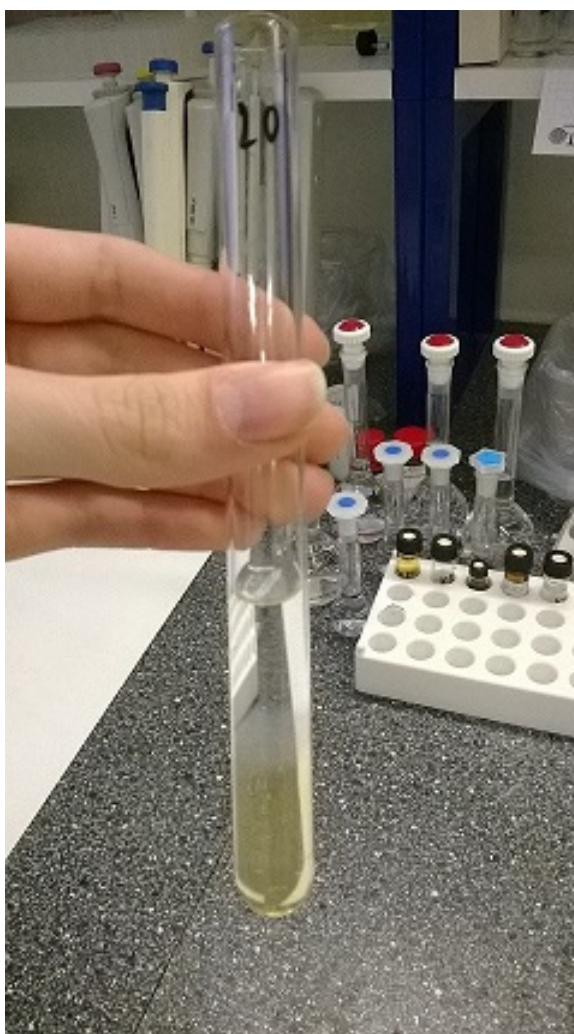
číslo	výrobce	vzorek	výsledek
<i>vzorek č. 1</i>	<i>výrobce 1</i>	<i>šunkový salám</i>	<i>pozitivní</i>
vzorek č. 2	neuveden	šunkový salám	negativní
vzorek č. 3	výrobce 2	šunkový salám	negativní
vzorek č. 4	neuveden	gothajský salám	negativní
<i>vzorek č. 5</i>	<i>neuveden</i>	<i>gothajský salám</i>	<i>pozitivní</i>
<i>vzorek č. 6</i>	<i>výrobce 3</i>	<i>gothajský salám</i>	<i>pozitivní</i>
vzorek č. 7	výrobce 4	vídeňské párky	negativní
<i>vzorek č. 8</i>	<i>výrobce 3</i>	<i>vídeňské párky</i>	<i>pozitivní</i>
vzorek č. 9	výrobce 5	vídeňské párky	negativní
vzorek č. 10	výrobce 6	špekáček	negativní
vzorek č. 11	výrobce 5	špekáček	negativní
vzorek č. 12	výrobce 7	špekáček	negativní
vzorek č. 13	výrobce 3	kabanos	negativní
vzorek č. 14	výrobce 3	kabanos	negativní
vzorek č. 15	výrobce 8	ostravská klobása	negativní
vzorek č. 16	výrobce 2	ostravská klobása	negativní
vzorek č. 17	výrobce 3	ostravská klobása	negativní
vzorek č. 18	výrobce 5	jemné párky	negativní
vzorek č. 19	výrobce 1	jemné párky	negativní
vzorek č. 20	výrobce 3	debrecínské párky	negativní
vzorek č. 21	výrobce 4	debrecínské párky	negativní
vzorek č. 22	výrobce 3	debrecínské párky	negativní
vzorek č. 23	výrobce 2	junior	negativní
vzorek č. 24	výrobce 3	junior	negativní
<i>vzorek č. 25</i>	<i>výrobce 1</i>	<i>standard</i>	<i>pozitivní</i>

Z celkového počtu 49 testovaných masných výrobků bylo prokázáno falšování u 7 z nich. Nevyhovující potraviny byly poté porovnány s výsledkem kontrol z roku 2013 uveřejněných na webových stránkách Potravin na pranýři. Žádný ze zveřejněných falšovaných výrobků se neshodoval s nevyhovujícími produkty odhalenými v této práci.

5.3 Důkaz porušení medu škrobovým sirupem, škrobovým cukrem a sladovými výtažky

Fieheho reakce II je poměrně často používána, protože bezpečně prokazuje 2% přídavek škrobového sirupu a sladových výtažků ve včelím medu. Při porušení medu těmito látkami vzniká na rozhraní vodní a alkoholové fáze bílý zákal sražených dextrinů¹¹. Dextriny obsažené ve škrobovém sirupu, cukru a sladových výtažcích se srážejí ethanolem v kyselém prostředí upraveném kyselinou chlorovodíkovou. Naopak dextriny přítomné v medu se za stejných podmínek nesrážejí.

Z 21 testovaných výrobků se objevila výrazná sraženina u vzorku č. 20. Tento med byl jeden z nejdražších, byl koupen ve zdravé výživě a pocházel z Řecka.



Obrázek 12: Vzorek č. 20 [9]

¹¹Dextriny= skupina nízkomolekulárních polysacharidů vyráběných hydrolýzou škrobu

Slabší zákal se objevil také u vzorku č. 16. Jednalo se o smíšený med pocházející z České republiky zakoupený v supermarketu.



Obrázek 13: Vzorek č. 16 [10]

Při porovnání výsledků s webovou stránkou Potraviný na pranýři opět nedošlo ke shodě u žádného výrobku. Tuto skutečnost si lze vysvětlit výrokem uvedeným na samotné stránce: „*V okamžiku zveřejnění informace již bylo na předmětné potraviny uloženo opatření ke stažení z prodeje a spotřebitelé by se s nimi v obchodech již neměli setkat.*“ [5]

6 Závěr

V první části práce byly shrnuty nejčastější způsoby falšování potravin spolu se zdravotními riziky. Dále byly popsány 4 základní metody, jimiž se nekvalitní potraviny odhalují. V praktické části byla pomocí dvou z nich – ELISY a kapalinové chromatografie – ověřena kvalita masných výrobků běžných dostupných v České republice. Falšování bylo celkově prokázáno u 1/7 výrobků. Dále byla testována autenticita medu, při které byly odhaleny 2 výrobky obsahující náhražky.

Výsledky této práce přinesly několik zajímavých skutečností. Znepokojující může být odhalení poměrně vysokého procenta falšovaných potravin, i když žijeme v době, kdy se podobný výsledek dal očekávat. Ne všichni prodejci jsou poctiví, a proto je třeba potraviny vybírat opravdu pečlivě. Spotřebitel by měl dbát zejména na prodejce, ověřenou značku a zemi původu. Důležité je také pokaždé zkontrolovat datum minimální trvanlivosti.

Na druhou stranu je velice pozitivním zjištěním, že se mezi nekvalitními výrobky nenacházely ty, u kterých bylo falšování prokázáno dříve. Můžeme vidět, že ať už příslušné orgány nebo samotní výrobci rychle reagují a podnikají kroky ke stažení nekvalitních výrobků z prodeje. Zde je vidět smysl častých kontrol kvality potravin.

Seznam použité literatury a internetových zdrojů

- KOLEKTIV AUTORŮ. Svět potravin a kouzlo biotechnologií: 24. letní škola. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2010. ISBN 978-80-7418-069-9, str. 94–101 (19.10.2013)
- Výukový materiál: Struktura a stavba potravin. Falšování potravin metody detekce a legislativní východiska [online]. Dostupné z URL: http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/SASP_vyuk/Falsovani_potravin_soubory/v3_document.htm (18.9.2012).
- Státní zemědělská a potravinářská inspekce. Kontrola správnosti označování potravin [online]. Dostupné z URL: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1004563&docType=ART&nid=11443> (22.9.2013)
- Biochemie.upol. Imunochemické metody [online]. Dostupné z URL: http://biochemie.upol.cz/doc/skripta/kbc/Imunochemicke_metody.pdf (25.9.2013)
- Vysoká škola chemickotechnická v Praze. Elektroforéza [online]. Dostupné z URL: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/cze/CZE.pdf (5.10.2013)
- Biochemie.sweb. Elektroforéza [online]. Dostupné z URL: <http://biochemie.sweb.cz/x/metody/elektroforeza.htm> (5.10.2013)
- Chemická sekce. SDS polyakrylamidová gelová elektroforéza (SDS PAGE) [online]. Dostupné z URL: [url=http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/EF/SDSPAGE%20kolecko.pdf](http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/EF/SDSPAGE%20kolecko.pdf) (15.10.2013)
- VOLMUTOVÁ, Ivana. PCR [online]. Dostupné z URL: http://www.studiumchemie.cz/materialy/Ivana_Volmutova/nukleove_kyseliny/NA_v_kazdodenni_praxi/PCR/text.pdf (22.10.2013)

- Vyhláška ministerstva zemědělství č. 76/2003 Sb. ve znění vyhlášky 43/2005 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. Sbírka zákonů (18.12.2013)
- Potraviny na pranýři. Metody pro průkaz falšování medu [online]. Dostupné z URL: <http://www.potravinynapranryri.cz/info/docDetail.aspx?docid=\1049475&docType=ART&nid=12075> (10.12.2013)
- Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay [online]. Dostupné z URL: <http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/uni01/uni01.html> (13.12.2013)
- Vyhláška ministerstva zemědělství č. 326/2001 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. Sbírka zákonů (20.12.2013)
- KVASNICOVÁ, Vladimíra. Datový standard MZ ČR. Kreatinin [online]. Dostupné z URL: http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/AJDJX.htm (20.1.2014)
- Potraviny na pranýři. Vysvětlení nevyhovujících parametrů [online]. Dostupné z URL: <http://www.potravinynapranryri.cz/info/docDetail.aspx?\docid=1048055&docType=ART&nid=12058> (24.1.2014)
- Sborník metodik vypracovaný v rámci řešení projektu č. EP9179 Metody pro posuzování shody a detekci falšování potravin. Stanovení svalové bílkoviny v masných výrobcích přes celkový kreatinin .

Seznam citací

- [1] KOLEKTIV AUTORŮ. Svět potravin a kouzlo biotechnologií: 24. letní škola. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2010. [cit. 19.10.2013]. ISBN 978-80-7418-069-9, str. 94-101.
- [2] Státní zemědělská a potravinářská inspekce. Kontrola správnosti označování potravin [online, cit. 22.9.2013]. Dostupné z URL: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1004563&docType=ART&nid=11443>
- [3] Potraviny na pranýři. Vysvětlení nevyhovujících parametrů. [online, cit. 24.1.2014]. Dostupné z URL: <http://www.potravinynapranryri.cz/info/docDetail.aspx?docid=1048055&docType=ART&nid=12058>
- [4] Vyhláška ministerstva zemědělství č. 76/2003 Sb. ve znění vyhlášky 43/2005 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. Sbírka zákonů, s. 2470 – 2524 [online, cit. 21.12.2013].
- [5] Základní informace. Potraviny na pranýři [online, cit. 5.2.2014]. Dostupné z URL: <http://www.potravinynapranryri.cz/info/lstDoc.aspx?nid=12056>

Seznam obrázků

- [1] ELISA–Enzyme-linked immunosorbent assay. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno [online, 13.12.2013]. Dostupné z URL: <http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/uni01/uni01.html>
- [2] Schematic diagram of the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) system. Intechopen [online, 19.12.2013]. Dostupné z URL: <http://www.intechopen.com/books/column-chromatography/chromatography-in-bioactivity-analysis-of-compounds>
- [3] SDS coated proteins. School of Life Sciences [online, 21.12.2013]. Dostupné z URL: http://web.sls.hw.ac.uk/teaching/Derek_J/a13cp2/techniques/page12/page12.html
- [4] PCR scheme. G-biosciences [online, 21.12.2013]. Dostupné z URL: <http://info.gbiosciences.com/blog/bid/155569/Using-Polymerase-Chain-Reaction-to-Identify-Different-Strains-of-an-Organism>
- [5] ELISA kit (Hana Ambrožová)
- [6] Výňatek z výsledné tabulky stanovení čisté svalové bílkoviny (Markéta Pitrová)
- [7] Výsledek standardu (Hana Ambrožová)
- [8] Výsledky metody ELISA (Hana Ambrožová)
- [9] Vzorek č. 20 (Markéta Pitrová)
- [10] Vzorek č. 16 (Markéta Pitrová)

Seznam tabulek

- [1] Poměry složek různě koncentrovaných kalibračních roztoků (převzato od RNDr. Aleny Ansorgové, Ph.D.)

- [2] Zákonem stanovený minimální obsah čisté svalové bílkoviny. Vyhláška ministerstva zemědělství č. 326/2001 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. Sbírka zákonů (6.1.2014)

- [3] Výsledky metody ELISA (Markéta Pitrová)

Seznam příloh

Příloha 1: Seznam masných výrobků testovaných na kapalinovém chromatografu

Příloha 2: Tabulka stanovení čisté svalové bílkoviny

Přílohy

vzorek	výrobce
7 - vysočina	výrobce 1
8 - vysočina	výrobce 2
9 - vysočina	výrobce 2
10 - vysočina	výrobce 3
11 - vysočina	výrobce 4
12 - herkules	výrobce 5
13 - herkules	výrobce 3
14 - herkules	výrobce 6
15 - herkules	výrobce 2
16 - herkules	výrobce 7
17 - paprikáš	výrobce 7
18 - paprikáš	výrobce 3
19 - paprikáš	výrobce 2
20 - paprikáš	výrobce 6
21 - poličan	výrobce 7
22 - poličan	výrobce 6
23 - poličan	výrobce 3
24 - poličan	výrobce 2
25 - poličan	výrobce 2
26 - lovecký salám	výrobce 7
27 - lovecký salám	výrobce 2
28 - lovecký salám	výrobce 3
29 - lovecký salám	výrobce 2
30 - standardní šunka	výrobce 8
31 - výběrová šunka	výrobce 6

Příloha 1: Seznam masných výrobků testovaných na kapalinovém chromatografu

vzorek	výrobce	navazka (g)	c (µg/ml)	R	c (mg/100 g)	ČSB	průměr (mg/100g)	směr.odch. (mg/100g)	RSD	rozšířená nejistota (mg/100g)
7a - vysočina	výrobce 1	2,0412	23,90402	5	292,77	14,64	14,75	0,12	0,00787	± 0,23
7b - vysočina	výrobce 1	2,0496	24,38340	5	297,42	14,87				
8a - vysočina	výrobce 2	2,0005	20,57100	5	257,07	12,85	13,04	0,19	0,01432	± 0,37
8b - vysočina	výrobce 2	2,1676	22,93669	5	264,54	13,23				
9a - vysočina	výrobce 2	2,1231	23,36604	5	275,14	13,76	13,90	0,14	0,01023	± 0,28
9b - vysočina	výrobce 2	2,0973	23,55917	5	280,83	14,04				
10a - vysočina	výrobce 3	2,0292	20,49081	5	252,45	12,62	12,56	0,07	0,00518	± 0,13
10b - vysočina	výrobce 3	2,1615	21,60192	5	249,85	12,49				
11a - vysočina	výrobce 4	2,1298	32,45478	5	380,96	19,05	18,73	0,32	0,01687	± 0,63
11b - vysočina	výrobce 4	2,1135	31,13774	5	368,32	18,42				
12a - herkules	výrobce 5	2,0549	28,82797	5	350,72	17,54	17,86	0,32	0,01800	± 0,64
12b - herkules	výrobce 5	2,0399	29,66669	5	363,58	18,18				
13a - herkules	výrobce 3	2,0295	24,28584	5	299,16	14,96	15,22	0,27	0,01747	± 0,53
13b - herkules	výrobce 3	2,0421	25,30584	5	309,80	15,49				
14a - herkules	výrobce 6	2,1173	25,57818	5	302,01	15,10	15,57	0,47	0,03011	± 0,94
14b - herkules	výrobce 6	2,0924	26,84690	5	320,77	16,04				
15a - herkules	výrobce 2	2,0969	27,14389	5	323,62	16,18	16,30	0,11	0,00701	± 0,23
15b - herkules	výrobce 2	2,1147	27,76098	5	328,19	16,41				
16a - herkules	výrobce 7	2,1561	20,50812	5	237,79	znehodnocen	14,73	0,00	0,00000	± 0,00
16b - herkules	výrobce 7	2,0377	24,01619	5	294,65	14,73				
17a - paprikáš	výrobce 7	2,0833	30,56799	5	366,82	18,34	18,14	0,20	0,01083	± 0,39
17b - paprikáš	výrobce 7	2,0685	29,70070	5	358,96	17,95				
18a - paprikáš	výrobce 3	2,0292	21,79400	5	268,50	13,43	13,82	0,40	0,02863	± 0,79
18b - paprikáš	výrobce 3	2,0295	23,08230	5	284,33	14,22				
19a - paprikáš	výrobce 2	2,0240	27,02533	5	333,81	16,69	16,62	0,07	0,00398	± 0,13
19b - paprikáš	výrobce 2	2,1151	28,01758	5	331,16	16,56				
20a - paprikáš	výrobce 6	2,0624	24,47470	5	296,68	14,83	14,70	0,14	0,00931	± 0,27
20b - paprikáš	výrobce 6	2,0569	23,95918	5	291,20	14,56				
21a - poličan	výrobce 7	2,0844	30,06125	5	360,55	18,03	18,08	0,05	0,00272	± 0,10
21b - poličan	výrobce 7	2,1097	30,59239	5	362,52	18,13				
22a - poličan	výrobce 6	2,0776	29,86775	5	359,40	17,97	18,11	0,14	0,00792	± 0,29
22b - poličan	výrobce 6	2,1640	31,60670	5	365,14	18,26				
23a - poličan	výrobce 3	2,2115	25,75315	5	291,13	14,56	14,48	0,08	0,00542	± 0,16
23b - poličan	výrobce 3	2,1701	24,99869	5	287,99	14,40				
24a - poličan	výrobce 2	2,0285	27,92095	5	344,11	17,21	17,43	0,23	0,01301	± 0,45
24b - poličan	výrobce 2	2,1706	30,66433	5	353,18	17,66				
25a - poličan	výrobce 2	2,0897	27,08715	5	324,06	16,20	16,00	0,20	0,01244	± 0,40
25b - poličan	výrobce 2	2,1186	26,78694	5	316,09	15,80				
26a - lovecký	výrobce 7	2,1199	31,50896	5	371,59	18,58	20,00	1,42	0,07098	± 2,84
26b - lovecký	výrobce 7	2,0770	35,58888	5	428,37	21,42				
27a - lovecký	výrobce 2	2,0836	28,37020	5	340,40	17,02	16,58	0,44	0,02661	± 0,88
27b - lovecký	výrobce 2	2,1925	28,30530	5	322,75	16,14				
28a - lovecký	výrobce 3	2,1216	22,01924	5	259,47	12,97	13,10	0,13	0,00983	± 0,26
28b - lovecký	výrobce 3	2,1009	22,23744	5	264,62	13,23				
29a - lovecký	výrobce 2	2,1430	36,82944	5	429,65	21,48	25,21	3,73	0,14799	± 7,46
29b - lovecký	výrobce 2	2,0574	47,64161	5	578,91	28,95				
30a - šunka	výrobce 8	2,0749	16,81540	5	202,60	10,13	10,13	0,0018	0,00018	± 0,00
30b - šunka	výrobce 8	2,0186	16,36500	5	202,68	10,13				
31a - šunka vyb.	výrobce 6	2,1327	26,45619	5	310,13	15,51	15,63	0,12	0,00767	± 0,24
31b - šunka vyb.	výrobce 6	2,0564	25,90397	5	314,92	15,75				

Příloha 2: Tabulka stanovení čisté svalové bílkoviny