

Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů**

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Využití hmotnostní spektrometrie při odhalování
falšování potravin**

Bakalářská práce

**Aneta Štěpánová
Kvalita produkce**

Ing. Matěj Božik, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití hmotnostní spektrometrie při odhalování falšování potravin" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. 7. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Ing. Matějovi Božikovi, Ph. D. za odborné, trpělivé vedení a cenné rady pro vypracování této práce.

Využití hmotnostní spektrometrie při určování falšování potravin

Souhrn

Bakalářská práce shrnuje metody při odhalování falšování potravin. Falšování potravin si lze představit jako úmyslné či neúmyslné nahrazení suroviny s cílem dosáhnout většího zisku. Příkladem může být náhrada suroviny za levnější, či neuvedením všech látek na etiketu, a to může vést k závažným zdravotním problémům spotřebitele, například k alergické reakci. Bakalářská práce se skládá ze zpracování literární rešerše a komparace metod hmotnostní spektrometrie (z anglického mass spectrometry, zkratka MS) využívaných při odhalování falšování jednotlivých komodit. Zaměřuje se na potraviny jak rostlinného, tak i živočišného původu a čerpá z aktuálních vědeckých článků. U komodit, kde lze použít více metod, zohledňuje, jaká je nejlepší z několika hledisek například přesnost, náročnost na čas, vybavení a jiné. Nejčastěji falšované produkty jsou například oleje, víno, mléčné výrobky, koření, lihoviny a podobně. I když jde o nejčastěji falšované produkty, v této práci jde pouze o naznačení problematiky falšování a odhalování. Některé skupiny produktů, jako například koření, jsou velmi rozsáhlé, že by vystačily na celou práci, proto zde nejsou uvedeny.

Podstatou hmotnostní spektrometrie je detekce nabitých částic (iontů). Ty vznikají v iontovém zdroji hmotnostního spektrometru z neutrálních molekul vzorku (při tzv. ionizaci). V další části spektrometru jsou pak všechny vzniklé ionty rozděleny podle podílu své hmotnosti a náboje (m/z) a následně detekovány. Metody, které patří do MS, jsou například MALDI-TOF MS, ESI, které ale mohou na začátku využít separaci molekul pomocí kapalinové (LC), vysokoúčinné kapalinové (HPLC) nebo plynové (GC) chromatografie.

Práce nejdříve shrne definici falšování potravin, poté historii MS, principy metod a jejich rozdělení. Dále se pak dělí na jednotlivé falšované komodity, kdy nejprve je charakterizována potravina, přínosy její konzumace na lidské zdraví, pěstování či její významní producenti. Poté je popsáno, čím je falšována a metody, které takový podvod odhalí.

Klíčová slova: hmotnostní spektrometrie, falšování potravin, MALDI-TOF MS, ESI, HPLC, mléko, maso, káva, kakao, alkoholické nápoje

The use of mass spectrometry for detection of food adulteration

Summary

The bachelor thesis aims to summarize methods for detecting food adulteration. Food adulteration can be thought of as an intentional or unintentional substitution of a raw material in order to make higher profit. An example could be the substitution of a raw material for a cheaper one, or the omission of all substances on the label, and this can lead to serious health problems for the consumer, such as an allergic reaction. The bachelor's thesis consists of processing a literature research and comparing the methods of mass spectroscopy (from the English mass spectrometry, abbreviation MS) used in detecting adulteration of individual commodities. It focuses on foods of both plant and animal origin and draws on current scientific articles. For commodities where multiple methods can be used, it takes into account which is best in several respects (for example accuracy, time, equipment, etc.). The most commonly counterfeited products are, for example, oils, dairy products, spirits, etc. Although these are the most common counterfeited products, this work is only an indication of the issue of counterfeiting and detection. Some product groups, such as spices, are very large, so they would be enough for the whole new work, therefore they are not listed here.

The principle of mass spectrometry is the detection of charged particles (ions). These are formed in the ion source of the mass spectrometer from neutral molecules of the sample (during the so-called ionization). In the next part of the spectrometer, all formed ions are divided according to the ratio of their mass and charge (m/z) and subsequently detected. Methods that belong to MS are, for example, MALDI-TOF MS, ESI, but they can initially use the separation of molecules by liquid (LC), high efficiency liquid (HPLC) or gas (GC) chromatography.

The work first summarizes the definition of food adulteration, then the history of MS, the principles of methods and their division. It is then divided into individual counterfeit commodities, where the food is first characterized, then the benefits of its consumption on human health, cultivation or its major producers. It then describes what it counterfeits about and the methods by which such fraud is detected.

Keywords: Mass spectrometry, food adulteration, MALDI-TOF MS, ESI, HPLC, milk, meat, coffee, cocoa, alcoholic beverages

Obsah

1	Úvod	7
2	Cíl práce	8
3	Hmotnostní spektrometrie	9
3.1	Historie	9
3.2	Jednotlivé části hmotnostních spektrometrů	9
3.3	Principy metod	11
3.3.1	MALDI-TOF	11
3.3.2	ESI.....	11
3.3.3	Chromatografie.....	12
3.3.4	Plynová chromatografie (GC)	12
3.3.5	Kapalinová chromatografie (LC)	13
3.3.6	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)	13
3.4	Příprava vzorků	14
3.5	Falšování produktů živočišného původu	15
3.5.1	Syrové mléko.....	15
3.5.2	Sýry	18
3.5.3	Máslo.....	20
3.5.4	Med.....	22
3.5.5	Maso a masné výrobky.....	24
3.6	Falšování produktů rostlinného původu	26
3.6.1	Obiloviny.....	26
3.6.2	Oleje a tuky	27
3.6.3	Olivový olej.....	27
3.6.4	Lískový olej.....	29
3.6.5	Sezamový olej	30
3.6.6	Káva.....	30
3.6.7	Kakao a čokoláda	32
3.7	Alkoholické nápoje	37
3.7.1	Whisky.....	38
3.7.2	Pivo.....	39
4	Závěr	42
5	Literatura	43
6	Seznam použitých zkratek a symbolů	48

1 Úvod

Během dlouhého vývoje zemědělství lidé zprvu vypěstované plodiny a chov zvířat využívali převážně pro vlastní potřeby. S rozvojem průmyslu se lidé začali stěhovat z vesnic do měst. Vlivem urbanizace muselo i zemědělství změnit svou povahu tak, aby i lidé ve městech měli obživu. V návaznosti na tuto změnu se zemědělství změnilo z vlastní spotřeby na účel produkční. Další vývoj technologií přispěl k produkci potravin určených k různému stupni zpracování. Ať už jde o stupeň zpracování při prodeji surovin, polotovarů, nebo finálního produktu. Výživa je jedním ze základních faktorů ovlivňující zdraví jedince. Základem stravování je vyvážená strava, která je důležitá pro správný růst a vývoj těla. Proto byly stanoveny normy pro příjem základních látek (bílkovin, sacharidů, lipidů, minerálních látek a vitamínů), které zajišťují správné fungování organismu. Množství a složení stravy je ovlivněno pohlavím, fyzickou zátěží, věkem, zdravotním stavem jedince a prostředím, ve kterém se pohybuje. Doporučuje se denně přijmout přibližně 15 % bílkovin, 30 % tuků, 55 % glycidů (sacharidů) z celkového příjmu potravy. Z energetického hlediska by průměrný denní příjem měl být 8400 kJ, nebo 2000 kcal. Nevhodně volené složení a množství stravy způsobuje civilizační choroby (Canja et al. 2016).

V dnešní době spotřebitelé vyhledávají stále více čerstvých, exotických, a ne vždy snadno dostupných produktů. Finální výrobky, nebo jejich části, pocházející z geograficky rozptýlených oblastí cestují ke konečnému spotřebiteli z nejrůznějších částí světa. Výsledkem globalizace je tedy komplexní protkaný řetězec produktů maloobchodních prodejců a také velká vzdálenost mezi místem výroby produktu až ke konečnému spotřebiteli (Koster & Brul 2016). Se snahou vyrobit co nejvíce potravin narůstá i podvodů s falšováním kvality jednotlivých potravin (Ruiz Orduna et al. 2017).

I přestože většina mezinárodně obchodovaných potravin je bezpečná, bývají hlášeny případy, kdy je potravina kontaminována látkou, která je pro člověka nebezpečná. Tyto látky se mohou do potravin dostat záměrně nebo nedodržením výrobní praxe během zpracování, skladování a přepravě potravin. Proto byla vyvinuta celá řada metod pro identifikaci chemických látek v potravinách, a to pro účely autentizace, hodnocení bezpečnosti a nutričních hodnot potravin. Hmotnostní spektrometrie je svou specifičností zařazená mezi chemické metody, kde identifikace probíhá na molekulární bázi (Handberg et al. 2015).

Potravinářský podvod lze definovat jako úmyslné falšování potravin pro zisk. Může znamenat riziko pro veřejné zdraví, například neuvedení všech použitých surovin může vést k alergické reakci. Jednotlivé druhy podvodů s potravinami jsou například přidané látky (falšování), substituce, zředění, šedý tržní produkt (napodobeniny), pašování, neoprávněný produkt nebo neoprávněné doplňování, zkreslení nebo nesprávné označování a padělání práv duševního vlastnictví (Spink et al. 2017). Právě bezpečnost a kontrola potravin má chránit spotřebitele. Samotný systém bezpečnosti, by měl odhalit nebezpečí už při prvotním vzniku. Orgány pro bezpečnost potravin mají předběžnou úlohu, a to shromažďovat a poskytovat tyto informace o nově vznikajících rizicích, s hlavním cílem prevence. K tomu je však zapotřebí celostní, tzv. holistický, přístup na složité celosvětové síti zemědělsko-potravinářský a potravinářských řetězců. Takový komplexní pohled na výrobu potravin může dále umožnit lepší porozumění a předvídání potravinových podvodů, i když nemusí jít o přímé ohrožení spotřebitele na jeho životě (Verhaelen et al. 2018).

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je provést literární rešerši a komparaci metod hmotnostní spektrometrie využívaných při odhalování falšování jednotlivých komodit. Práce je zpracována z aktuálních vědeckých článků a zaměřuje se na potraviny jak rostlinného, tak živočišného původu. U komodit, kde lze použít více metod, zohledňujeme, jaká je nejlepší z několika hledisek, například přesnost, náročnost na čas, vybavení a jiné.

3 Hmotnostní spektrometrie

3.1 Historie

Od 20. století byla téměř veškerá analýza potravin prováděná pomocí klasické chemie na základě chemické reakce za použití snadno dostupných zařízení v laboratořích. Byly vyvinuty metody pro stanovení makroživin (bílkoviny, sacharidy, lipidy), které se používají dodnes. Na příkladu u metody stanovení bílkovin podle Kjeldhala, která je založená na třech základních krocích (mineralizace, destilace, titrace). Mineralizací se bílkovinný dusík převede na amoniak, který se oddestiluje do předlohy s přebytkem kyseliny sírové za vzniku síranu amonného. Množství nezreagované kyseliny stanovíme titračně. Metoda je náročná, pracná a nelze rozpoznat, zda výsledek bílkovin byl přirozený či se jedná o bílkoviny přidané (Mcgorrin 2009).

Velkým milníkem se stává sestavení elektronického spektroskopického zařízení a vývoj chromatografických metod. To má velký význam v analytických metodách. První komerční hmotnostní spektrometry vybavené iontovými zdroji s elektronovou nebo chemickou ionizací a kvadrupólové analyzátoři se datují 60 let zpátky. Nevýhodou těchto analyzátorů bylo, že uměly stanovit pouze těkavé sloučeniny. Proto, na začátku 80. let 20. století, byly vyvinuty „měkké“ ionizační techniky jako je elektrosprejová ionizace (ESI) a laserová desorpce/ionizace pomocí matrice (MALDI), které umožňují měřit netěkavé molekuly s vysokou molekulovou hmotností. Je možné analyzovat s vysokou přesností intaktní (poly)peptidy, proteiny, polysacharidy a komplexní lipidy pokrývající celou škálu potravinových složek. ESI a MALDI jsou dvě z nejčastěji používaných technik v MS (Gallo et Ferranti 2016).

3.2 Jednotlivé části hmotnostních spektrometrů

Hlavní součásti hmotnostních spektrometrů jsou:

- **Iontový zdroj** - slouží k převedení neutrálních molekul analytu na nabitě částice (tzv. ionizace).
- **Hmotnostní analyzátor** - slouží k rozdělení iontů v plynné fázi za vysokého vakua podle poměru hmotnosti a náboje (m/z).
- **Detektory** - slouží k detekci iontů po jejich separaci podle m/z a k určení relativní intenzity jednotlivých iontů.

Hmotnostní spektrometrie (z anglického Mass spektrometry, zkráceně MS) je analytická technika, která zkoumá převážně organické látky. Využívá se při kvalitativní i kvantitativní analýze. Při kvalitativní analýze organických látek je pomocí MS nejčastěji stanovována jejich molekulová hmotnost nebo objasňována jejich struktura. V oblasti určení struktury organických látek většinou doplňují spektroskopické metody nukleární magnetické rezonance a infračervené spektroskopie. Výjimku tvoří nízkomolekulární a organické látky. Jejich hmotnostní spektra, která jsou měřena technikou elektronové ionizace. V dnešní době jsou součástí obsáhlých databází. MS slouží k jejich identifikaci především ve spojení s plynovou chromatografií

(GC/MS). Při kvantitativní analýze se MS využívá k detekci celé řady sloučenin. Pro tyto účely se dnes využívají mimo elektronové ionizace také ostatní ionizační techniky. I tzv. vícenásobná hmotnostní spektrometrie ve spojení s některou ze separačních technik. Vedle plynové chromatografie je MS běžně spojována také s kapalinovou chromatografií, převážně s reverzním uspořádáním fází (LC/MS) (Ellis et al. 2012).

Podstatou MS je detekce nabitých částic (iontů). Ty vznikají při měření v iontovém zdroji hmotnostního spektrometru z neutrálních molekul vzorku při ionizaci. V další části spektrometru jsou pak všechny vzniklé ionty rozděleny podle podílu své hmotnosti a náboje (m/z). Následně jsou detekovány v podobě hmotnostních spekter (Becker 2019). Hlavní procesy v MS je příprava vzorku, jeho převod do plynné fáze, následná ionizace, detekce iontů a zpracování dat. Vzorek před zavedením může být separován chromatografickými nebo elektroforetickými technikami (u metod plynové chromatografie, kapalinové chromatografie, kapilární elektroforézy). Nebo mohou být přímo zavedeny do hmotnostního spektrometru (Ellis et al. 2012).

Nezbytnou součástí každého hmotnostního spektrometru je iontový zdroj, který „vyrábí“ ionty. Ty se mohou po svém vzniku rozpadat (tzv. fragmentovat). Z látek vstupujících do iontového zdroje vznikají kladně nebo záporně nabitě ionty molekulární, či aduktové. V některých případech u méně stabilních látek i fragmenty ionizované molekuly. Iontových zdrojů lze v současné době napočítat desítky. Avšak obecně je můžeme rozdělit do dvou skupin na základě množství dodané energie při ionizaci na tzv. „tvrdé a měkké“. V analyzátoru dochází k separaci iontů na základě poměru hmotnosti ku náboji (m/z). Byla vyvinuta celá řada analyzátorů. Nicméně všechny využívají statické nebo dynamické fáze za pomoci elektrického nebo magnetického pole, případně jejich kombinaci. Dělíme je do několika skupin. První zahrnuje skenující analyzátory. Ty kontinuálně v čase separují a vysílají k detektoru ionty s určitou hodnotou m/z . Typickými zástupci jsou kvadrupólové analyzátory nebo sektorové přístroje. Druhou skupinu zahrnují analyzátory s transmisí všech iontů současně do letové trubice. V ní pak dochází k jejich separaci díky rozdílné době letu k detektoru (TOF). Další skupinu tvoří analyzátory zachycující ionty v cele či pasti (iontové pasti, iontově cyklotronové rezonance (ICR) nebo elektrostatické iontové pasti (Orbitrap)). Toho se využívá ve Fourierově transformaci, která představuje kombinaci analyzátoru a detektoru (Soeriyadi et al. 2013).

Hmotnostní spektrometry nabízejí řadu výhod a omezení pro použití v potravinářském průmyslu. Cíleně jsou k dispozici analytické metody s vysokou specifičností a citlivostí kvantifikovat přesné analyty. Ke kvantifikaci analytů se obvykle používají s kondenzovanou kapalinovou chromatografií na trojnásobně kvadrupólové hmotnostní spektrometry (LC/MS). Platformy plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) se také používají pro kvantifikaci analytů. Spojování platform chromatografie a hmotnostní spektrometrie také umožňují detekci analytů v komplexu vzorků s koncentrací menší než mg v 1 ml nebo mg v 1 g. Jsou zlatým standardem pro provádění kvantifikace v potravinářském průmyslu a mnoha dalších průmyslových odvětví, včetně farmaceutického průmyslu. Tyto metody však zahrnují rozsáhlou přípravu vzorků. A tudíž čas od vzorkování po získávání výsledků, může být časově náročnější a trvat i několik hodin (Ellis et al. 2012). Zavedení GC umožňuje separaci, identifikaci a stanovení chemických sloučenin ve složitých směsích. To je zajištěno spojením velkého počtu detektorů různé povahy (Gallo et Ferranti 2016). Jiné metody hmotnostní spektrometrie lze použít s minimem (např. MALDI), nebo žádnou (např. DESI) přípravou

vzorků. Lze tím urychlit analýzu, i když obecně s nižší citlivostí pro analytickou kvantifikaci (Ellis et al. 2012).

3.3 Principy metod

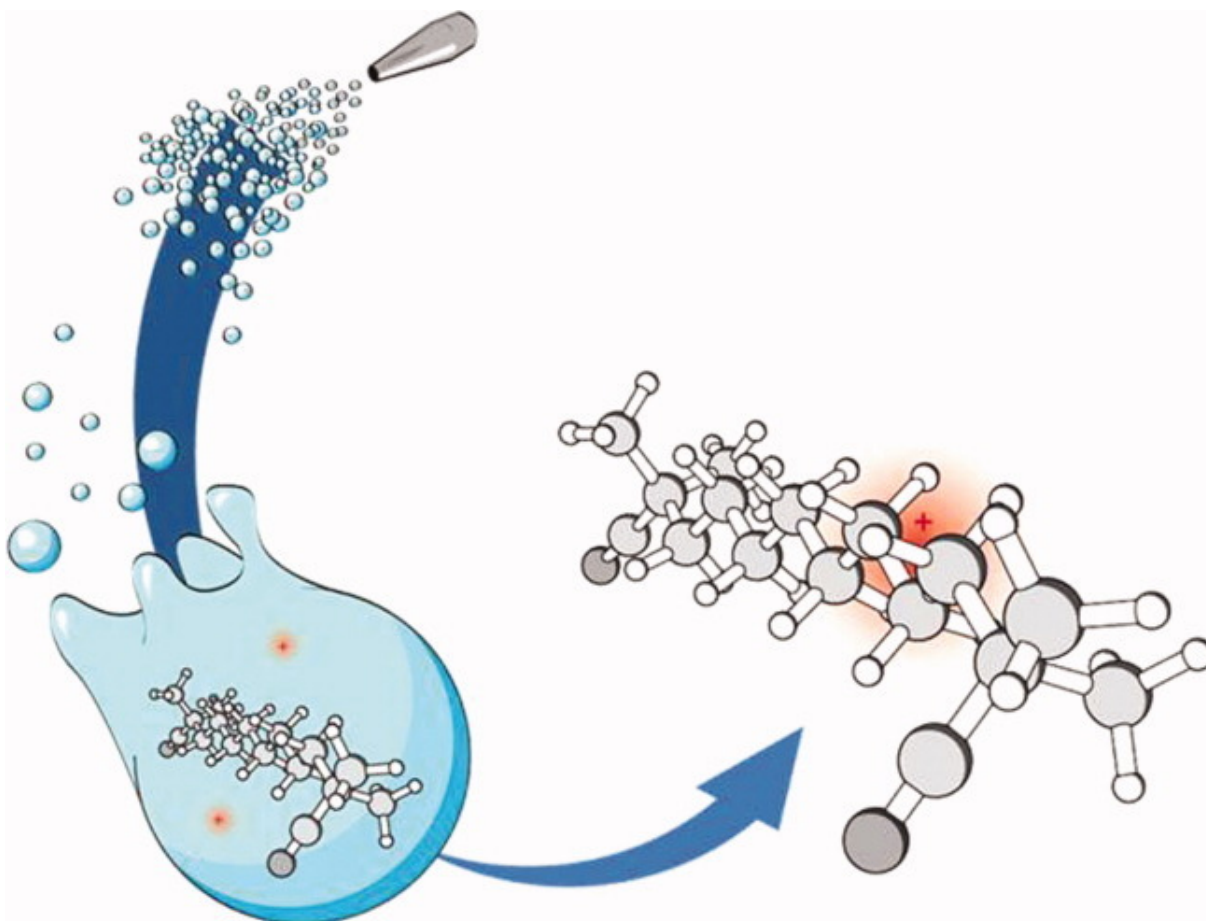
Metody mohou být cílené i necílené. Cílené metody obvykle využíváme pro stanovení sloučenin, o kterých víme, že se v daném vzorku vyskytují. Pro tento účel byly vyvinuty specifické postupy pro extrakci, čištění, separaci a detekci sledovaných látek. Necílené metabolické přístupy založené na MS se využívají pro nedostatek dostupných referenčních standardů pro mnoho metabolitů (zejména nesčetné množství rostlinných sekundárních metabolitů). Výhodou takových postupů je schopnost získat obrovské množství dat během analýzy. V zásadě jsou používány chromatografií v kombinaci s hmotnostním spektrometrem, který obsahuje detektor s úplným skenováním. Všechny ionty jsou detekovány po celou dobu chodu přístroje. Díky tomu neexistuje omezení pro počet detekovaných látek (Gallo et Ferranti 2016).

3.3.1 MALDI-TOF

Jak bylo výše uvedeno, metody se mohou dělit podle technologie na základě množství dodané energie při ionizaci na „měkké a tvrdé“. V měkké ionizaci je zahrnuto převedení pevného nebo rozpuštěného vzorku do plynné fáze bez vyvolání jakýchkoli změn molekulární struktury. V MALDI je ionizace dosaženo pomocí laseru, který vypálí do matrice. Ta je navržena tak, aby absorbovala drtivou většinu laserové energie. Tím se změkčí přenos energie na analyt a poskytne se jemný ionizační proces. Účel matrice je dvojitý. Pomáhá ionizovat analyzovaný vzorek a zároveň ho chrání před přímou energií laseru, čímž minimalizuje nebo eliminuje fragmentační procesy. MALDI je často spojeno s časem letu (TOF), který usnadňuje měření řetězců vytvořených individuálně v laserových záběrech. Pokud bude k vybavení připojeno iontové zrcadlo pro odklonění iontů elektrickým polem, může být potenciální dráha letu zdvojnásobena a zajistí se tak větší rozlišení (Soeriyadi et al. 2013).

3.3.2 ESI

ESI je také řazena mezi měkké a širokospektrální ionizační techniky. Nejlépe se uplatňují u polárních molekul. Při přímé infuzi ESI MS se využívá malá nebo takřka žádná úprava vzorku. To poskytuje téměř okamžitou informaci o složení daného vzorku. Z toho důvodu se stala vhodnou a rychlou volbou pro charakteristiku přírodních směsí (piva, vína, rostlinného oleje) (Cozzolino & De Giulio 2011). Proces ionizace (obrázek č. 1) ESI MS je založen na využití odpudivých elektrických sil k rozptýlení roztoků ve vzorku do jemné aerosolové formy. Z ní se následně odpaří rozpouštědla. Během reakce se vzorek stává nestabilním až do doby, než dosáhne Rayleighovy hranice. Poté kapičky prasknou a vytvoří se ionty plynné fáze, které jsou do hmotnostního spektrometru. K ESI mohou být použity hmotnostní analyzátoři včetně TOF, kvadrupóly, iontové lapače a Fourierovy transformační iontové cyklotronové rezonance (FT-ICR) (Soeriyadi et al. 2013).



Obrázek 1: pro představu je zde naznačená grafická ilustrace ionizace v ESI (Soeriyadi et al. 2013)

3.3.3 Chromatografie

Chromatografie je separační metoda, při které se oddělují (separují) složky obsažené ve vzorku. Je vhodná pro oddělení dvou látek přítomných ve vodném roztoku, z nichž jedna je rozpustná v organickém rozpouštědle nemísitelném s vodou a druhá látka rozpustná není. Rozpustnou látku lze do tohoto rozpouštědla vyextrahovat. Pokud jsou však rozpustnosti těchto dvou látek podobné, dosáhne se extrakcí pouze toho, že se obě látky rozdělí mezi vodnou a organickou fázi. Přičemž jejich poměr se v obou fázích poněkud změní. V takovém případě je řešení imobilizovat jednu z fází na vhodném nosiči. Druhou fází obsahující dvě oddělované látky nechat zvolna protékat podél této imobilizované fáze. Dvě látky, které je třeba oddělit a unášejí je tekoucí fáze, budou střídavě přecházet z jedné fáze do druhé. Jednotlivé extrakční kroky však již nebudou odděleně definovány. Tomuto důsledku se říká migrace a je základním principem chromatografie (Becker 2019).

3.3.4 Plynová chromatografie (GC)

Podle skupenství mobilní fáze se dělí na plynovou a kapalinovou chromatografii. Plynovou chromatografii (GC - gas chromatography) lze použít na separaci plynných látek nebo látek, které lze definovaným způsobem převést do plynného stavu. Metoda je rozsáhlá a může mít několik variant. Ty se mohou lišit například použitím adsorbentu (silikagel, polymery, grafitizovaný uhlík), či použitím různých detektorů. Plynová chromatografie je metoda určená

k dělení látek (jak plyných, kapalných či pevných) s bodem varu do 400 °C. K rozdělování složek dochází mezi fázemi (pohyblivé - mobilní a nepohyblivé - stacionární). V mobilní fázi je přítomný plyn (tzv. nosný). Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně. Její náplň může být buď pevná látka (aktivní uhlí, silikagel) nebo kapalina. Ta vydrží vysokou teplotu a je nanesená v tenké vrstvě na pevném nosiči (Kruve et al. 2011). Princip separace začíná prouděním nosného plynu ve stacionární fázi. Vzorek je vstříknutý do nástřikové kolony (injektoru), kde se odpaří a ve formě par je unášen nosným plynem do kolony. Následně látky vstupují do detektoru. Ten je okamžitě indikuje na základě koncentrace separovaných látek v nosném plynu. Na konci separace všech složek ve vzorku dostaneme chromatogram obsahující několik křivek (píků). Jejich plocha a výška je úměrná množství látky ve vzorku (Becker 2019). Analýza LC/MS se stala přední analytickou technikou pro stanovení pesticidů. Využívá se také v potravinářství. Při metodě vzniká tzv. maticový efekt, který je způsoben změnou ionizace (obvykle potlačením ionizace) (Kruve et al. 2011).

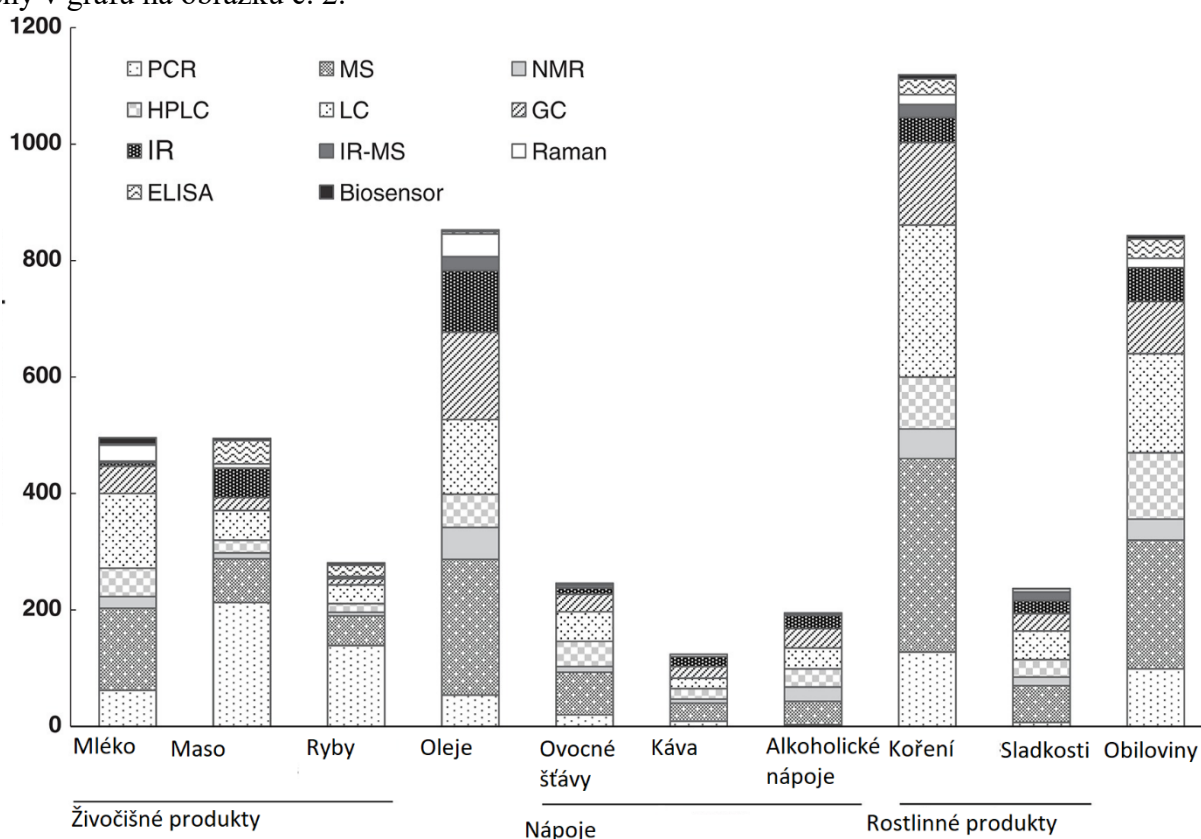
3.3.5 Kapalinová chromatografie (LC)

Kapalinová chromatografie (LC - liquid chromatography) na rozdíl od GC rozhoduje o separaci složek vzorku nejen interakcí se stacionární fází, ale rovněž s mobilní fází. LC je separační metoda, založená na rozdílu v distribuci mezi dvě nemísitelné fáze. Mobilní fáze je kapalina, která prochází stacionární fází. Podle uspořádání stacionární fáze se rozlišuje kolonová, tenkovrstevná či papírová kapalinová chromatografie. Metoda je založená na principu mechanismu adsorpce, rozdělování a výměně plynů. Přístroj je vybaven čerpacím systémem, dávkovacím zařízením, chromatografickou kolonou, detektorem a zařízením ke zpracování dat. Mobilní fáze protéká kolonou konstantní rychlostí a poté se látky stanovují v detektoru (Choi et al. 2008).

3.3.6 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High performance liquid chromatography) se řadí mezi nejčastěji používané separační metody. Vyniká vysokou účinností, dobrou opakovatelností a robustností. Metoda je vhodná pro dělení organických méně těkavých kapalných nebo tuhých látek. Ty jsou rozpustné ve vodě, organických rozpouštědlech nebo zředěných kyselinách. HPLC je založena na separaci analytů na základě jejich distribuce mezi stacionární a mobilní fází, kterou je vždy kapalina. Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně. Během separace se dosahuje mnoha typů interakcí. Uplatňují se interakce analytů s mobilní fází, interakce mobilní fáze se stacionární fází a sorpce analytů na stacionární fází. Princip stanovení začíná vložením vzorku dávkovacím ventilem do mobilní fáze. Ta unáší jednotlivé složky vzorku do kolony, kde dochází k opakovanému ustanovení rovnováhy mezi mobilní a stacionární fází a k separaci analytů podle fyzikálně-chemických vlastností. Po průchodu separační kolonou jsou analyty v mobilní fázi detekovány v průtokové cele detektoru. Měřenou veličinou je fluorescence, absorbance, index lomu, elektrická vodivost. Výstupem z detektoru je grafický záznam závislosti odezvy detektoru na retenčním čase. To je chromatogram, na němž se hodnotí plocha nebo výška píku. Kvantitativní analýza se provádí na principu odečtení výsledku z kalibrační křivky (Gallo & Ferranti 2016).

Na odhalování falšování lze použít mnoho metod analytické chemie, ty základní jsou uvedeny v grafu na obrázku č. 2.



Obrázek 2 – poměr jednotlivých metod používaných pro odhalování falšování v jednotlivých kategoriích (Hong et al. 2017)

3.4 Příprava vzorků

Odběr vzorku je první fází analytického procesu, která je zásadní pro správnou interpretaci výsledků. Chybu v této fázi nelze nijak korigovat a ovlivňuje celý analytický proces. Z tohoto důvodu je nezbytné používat vzorek, který byl správně připravený. Odběr vzorků není možný bez odborných znalostí o sledované složce nebo analytickém postupu, který má být použit. Vzorek musí být homogenní a reprezentativní pro dané stanovení. Pokud je nutný daný vzorek skladovat, musí se použít látka, která nebude ovlivňovat vlastní stanovení. Postup odběru je závislý na fyzikální povaze vzorku (plyn, kapaliny nebo pevná látka) a účelu analýzy. Potraviny jsou velmi složité matrice a vyžadují se specifické postupy pro přípravu vzorku. Extrakce vzorků analytů, které jsou předmětem zájmu, je nezbytná k minimalizaci nebo prevenci změn. Ty se vyskytují ve vzorcích potravin v důsledku enzymatické aktivity, oxidace lipidů, mikrobiálního růstu a fyzikálních změn. Vzorkování tekutiny potravinové matrice se musí zajistit jejich jednotnost. Používají se látky, které netvoří například zákal, či sraženinu. Zajištění jednotnosti je složitější u pevných vzorků (Soeriyadi et al. 2013).

Obecně se odebírají primární vzorky z různých míst materiálu, které jsou shromážděné ve velkém vzorku a ten je následně je homogenizován. Každá země může mít lehce odlišná pravidla pro schémata odběru vzorku. Volba metody přípravy vzorku může být složitá, protože se často vyžaduje zvážení několika parametrů současně. Nejprve je důležité posoudit chemické

a fyzikální vlastnosti požadované sloučeniny včetně těkavosti, polariry, rozpustnosti a stability (tepelné, oxidační, hydrolytické). Pro vyhodnocení analytu by měla být také uvažena potravinářská matrice, která interaguje s ostatními složkami ve vzorku a s možnými degradačními reakcemi, například enzymy. Rozbory potravin mají tendenci urychlovat přípravu vzorku extrakcí a čištěním v jednom kroku. Podmínky extrakce musí být optimalizovány, aby se maximalizovala výtěžnost analytů. Pokud je nutné odstranit molekuly reagující spolu s extrahovaným analytem, před konečným analytickým stanovením by měl být zahrnut krok jemného čištění vzorku. Při přípravě vzorku je použita extrakce sloučenin, které jsou buď v kapalném nebo pevném stavu. Vzorek se plní do patrony, či kolony, která se vkládá do přístroje. Například u vzorku, který je v kapalném stavu a vložený do kolony, se cílové sloučeniny zadržují v sorbentu, zatímco ostatní látky se vymývají. Existují i miniaturizované verze, které jsou speciálně určeny pro přípravu vzorků v potravinářské analýze. Jsou vyráběny komerčními výrobci a v posledních letech se staly populárními díky snadnému a rychlému použití. Umožňují jednostupňové odsolování, koncentraci a čištění vzorků potravin pro následné analýzy (Gallo & Ferranti 2016).

3.5 Falšování produktů živočišného původu

3.5.1 Syrové mléko

Mléko je sekretem mléčné žlázy, který obsahuje vodu a sušinu (bílkoviny, lipidy, laktózu a ostatní minoritní látky, jako jsou vitamíny a minerální látky). Jeho složení záleží na druhu zvířete, jeho zdravotním stavu, stádiu laktace, kvalitě krmné dávky a podobně (Lacková et al. 2019). Je snadno stravitelné a má ve své přirozené formě vysokou nutriční hodnotu. Pro spotřebitele je dobrým zdrojem bílkovin, tuků, vitamínů a minerálních látek (například vápníku). Konzumace je vhodná pro kojence, děti, kojící ženy, ale také pro seniory (Poonia et al. 2017).

Cena mléka je rozdílná podle druhu zvířete, ze kterého pochází (například u kravského mléka se cena pohybuje kolem 6 Kč za litr, zatímco cena kozího mléka může být 30–50 Kč za litr). Z těchto důvodů je z ekonomického hlediska atraktivní nahradit jeho část jinými mléčnými nebo nemléčnými přísadami. Druhá identifikace mléka (buvolí, kravské, kozí a ovčí) a mléčných výrobků (sýr, máslo a sušené mléko) je důležitá při určování složení potravin, sledovatelnosti alergických patologií a přesných informací pro spotřebitele (Hong et al. 2017).

Mléko a mléčné výrobky lze falšovat přidáním dalších produktů, jako je syrovátka, škrob, nemléčný tuk, voda, rostlinné bílkoviny, rostlinné oleje, sádlo, margarín, melamin a jiné (Hong et al. 2017). Pokud je však falšováno, stává se produktem se sníženou kvalitou a může být pro samotného spotřebitele nebezpečné. Poonia et al. (2017) ve své práci uvádí příklad na lidech, kteří jsou alergičtí na kravské mléko. Pokud tyto lidé požijí mléko kozí, které bylo částečně falšováno mlékem kravským či syrovátkou, mohou být ohroženi na zdraví (Poonia et al. 2017). Mezi mléka, která jen výjimečně mohou vyvolat alergickou reakci patří kozí mléko a v posledních letech i mléko oslí. Z těchto důvodů se využívají na výživu novorozenců, dětí i dospělých. Převážně jde o lidi trpící alergickou reakcí na kravskou

bílkovinu. Je důležité, aby se zabránilo falšování a kontaminaci mléka jinými mléčnými alergeny (Di Girolamo et al. 2014). Lze to uvést na příkladu u falšování ovčího, koziho a buvolího mléka (kvůli menšímu nádoji) přidáním mléka kravského. Falšování lze provést buď čerstvým nebo sušeným materiálem (Sassi et al. 2015). Například pomocí MALDI-TOF MS můžeme profilovat mléka a posoudit jejich pravost. Metody jsou založené na rozpoznávání antigenů (β -kasein, β -laktoglobulin) pomocí specifických protilátek. MALDI-TOF MS je založená na „otisku prstu“ mléčných bílkovin. Na výsledném hmotnostním spektru vyčteme vrcholy, které představují nejhojnější bílkoviny a odhadneme, z jaké suroviny byl produkt vyrobený (Di Girolamo et al. 2014).

Obecně se mléko a jeho falšování nemléčnými tuky, zkoumá pomocí metod kapalinové, nebo plynové chromatografie, lze použít i metoda spektrometrie pro charakterizaci profilů triacylglycerolů (Garcia et al. 2012). Postup stanovení pro odhalování falšování mléka přidáním nemléčného tuku pomocí metody MALDI-TOF MS popisuje ve své práci Garcia et al. (2012). Data pro metodu byla sbírána pomocí hmotnostního spektrometru Premier (Waters-Micromass, Manchester, Velká Británie). Hmotnostní spektra, která byla získána v pozitivním režimu po ionizaci dusíkovým laserem za použití hlavních parametrů: hmotnostní rozmezí od 700,0 do 1 000,0 Da, hmotnostní práh 200,0 Da, doba skenování 2 s, rozlišení 10 000 v režimu „V“, spouštěcí prahová hodnota 700 mV, citlivost signálu 80 mV a mikrokanálové desky s fotonásobičem nastaveným na 2100 V. Každá spektra se shromažďovala po 1 y skenování, a spektra byla nahromaděná během cca 1 min. Data MS byla zpracována pomocí softwaru MassLynx 4.1v. A následně dochází k závěru, že MALDI-TOF MS poskytuje rychlou identifikaci falšování, založenou na zkoumání profilů triacylglyceridů.

Další typ falšování mléka byl zjištěn v Číně, ve kterém došlo k přidávání melaminu do mléka pro zvýšení obsahu bílkovin (Cheng et al. 2010). Melamin (2,4,5-triamino-1,3,5-triazin) je chemikálie bohatá na dusík, která se běžně používá k výrobě melaminové pryskyřice, syntetického polymeru odolného vůči teple. Do potravin se nesmí přidávat a ani podávat zvířatům jako součást krmné dávky. Melamin a jeho příbuzné sloučeniny (například kyselina kyanurová) se přidávaly, aby zvýšily obsah proteinů (Lin et al. 2008). V technologickém zpracování z něho bylo vyrobeno sušené mléko, které se pak používalo jako dětská výživa. I když melamin není ve své podstatě karcinogenní, může vést k tvorbě a vylučování ledvinových kamenů, akutního selhání ledvin, a dokonce až k úmrtí kojence. Pro odhalení přidaného melaminu do mléka můžeme využít metody LC/MS, GC/MS, i ELISU (analytickou metodu využívanou ke kvantitativnímu stanovení různých antigenů), které ale vyžadují časově náročné předúpravy vzorku. Proto byla vyvinuta metoda Ramanovy spektroskopie, která patří do tandemové hmotnostní spektroskopie (Cheng et al. 2010). Autor ve své práci popisuje přesný postup pro stanovení. Využívá zaznamenávání pomocí inspektoru RamanTM 1.3 (DeltaNu Inc., Laramie, WY, USA). Při získávání dat systém emitoval až 10 mW záření při 785 nm prostřednictvím své výstupní optiky a zaznamenával od 200 do 2000 cm. Inspektor RamanTM používá software NuSpecTM Ver. 4.75. Přibližně 260-300 mg melaminu bylo naváženo do skleněné lahvičky, uzavřeno a po dobu 2 minut mícháno a poté analyzováno. Ramanovo spektrum bylo zaznamenáno od 450 do 1050 cm/s laserovou hladinou. Jako slepá kontrola byl nejprve změřen vzorek sušeného mléka pomocí LC/MS (detekční limit 0,01 mg/kg), aby bylo zajištěno, že neobsahuje žádný melamin. Poté se za stejných podmínek, jak bylo uvedeno výše, změřilo mléko, prášek obohacený mlékem s různými hmotnostními

koncentracemi (3%, 5%, 10%) melaminu a následně byly změřeny skutečné vzorky sušených mlék. Detekční limit (DL) pro metodu byl stanoven standardní odchylkou odezvy a sklon kalibrační křivky vyjádřený jako $DL=3,3 \sigma/S$, kde σ je standardní odchylka slepé odpovědi a S je sklon kalibrační křivky koncentrace. Metoda je vhodná i když se do mléka přidá větší podíl melaminu a naředí se vodou. Poté dochází k závěru, že právě Ramanova spektroskopie je výhodnější a přesnější než například metody HPLC, GC či LC (Cheng et al. 2010).

V mnoha zemích je zakázáno přidávat nemléčné proteiny jako doplňky a náhražky kravského mléka. Navzdory dobrým funkčním a nutričním vlastnostem sójových proteinů, je přidání těchto rostlinných produktů do kravského mléka ke snížení výrobních nákladů nežádoucí, a to z hlediska kontroly kvality. Sójový protein se může objevit v kojenecké výživě a mléčných náhražkách (Sharma et al. 2009). Na počátku 90. let byla detekce cizích proteinů přidávaných do mléka omezena na metody založených na imunologických vlastnostech proteinů (ELISA). Novější metody na stanovení cizích proteinů v mléce, jsou například vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází (RP-HPLC). Metoda byla úspěšně použita k analýze sójových proteinů a současně separaci sójových a kravských syrovátkových proteinů (Poonia et al. 2017). Postup stanovení metodou RP-HPLC, která je založeno na chromatografické separaci analytů na základě jejich hydrofobních vlastností, navrhnul ve své práci Poonia et al. (2017). Pro takový pokus bylo mléko obohaceno sójovým proteinem a oddělené bylo za méně než 2 minuty pomocí lineárního binárního gradientu acetonitril-voda s 0,1% kyselinou trifluoroctovou. Při této metodě byly sójové proteiny ve formě izolátu v rozmezí 0,65-1,22 mg/ml vzorku mléka. Ačkoliv se při analýze čerstvého mléka pomocí metody RP-HPLC vyskytla matricová pronikání, tato metoda měla výhodu ve snadnosti a rychlosti provedení testů. Je vhodná, pokud je potřeba stanovit více vzorků za den. Také uvádí, že metoda jasně odděluje sójové a mléčné proteiny v kravském, kozím a ovčím mléku.

Sóju v mléce lze odhalit i podle cukrů. Hlavními sacharidy v sóje jsou sacharóza, rafinóza a stachyóza, zatímco laktóza je hojně přítomná v kravském mléce. Cukry v mléce a mléčných výrobcích jsou analyzovány plynovou chromatografií. Přestože plynová chromatografie je citlivou metodou pro analýzu cukru, postup a příprava vzorků je velice zdlouhavý a pracný. Rychlejší metodou je použít metodu HPLC (Sharma et al. 2009). Stanovení cukrů právě pomocí Shimadzu HPLC s detektorem RIO10A RI, a kolonou Phenomenex Luna (s velikostí částic 5 μ m, velikostí pórů 100 Å, 4,6 \times 250 mm) s chromatografem CLASS VP™ se zabudovaným softwarem uvádí ve své práci Sharma et al. (2009). Teplota kolony a RI buněk byla udržována na 40 °C a systém isokratického rozpouštědla byl acetonitril a vody v poměru 70:30 při průtokové rychlosti 1 ml/min. Cukry (jako fruktóza, glukóza, galaktóza, laktóza, sacharóza, rafinóza a stachyóza) byly použity jako standardní látky pro stanovení retenčního času a vztahu mezi koncentrací cukru a plochou píku. Všechny cukerné standardy a mléčné filtráty byly sonikovány při 40 W po dobu 5 minut v dávkách po dobu 2 minut s 1 min. hiatem k odstranění rozpuštěných plynů. Poté byly do ručního injektoru vloženy objemy 20 μ l a analyzovány. Po analýze bylo zjištěno, že právě stachyóza, je vhodná pro použití jako markeru pro odhalování falšování kravského mléka sójovým.

3.5.2 Sýry

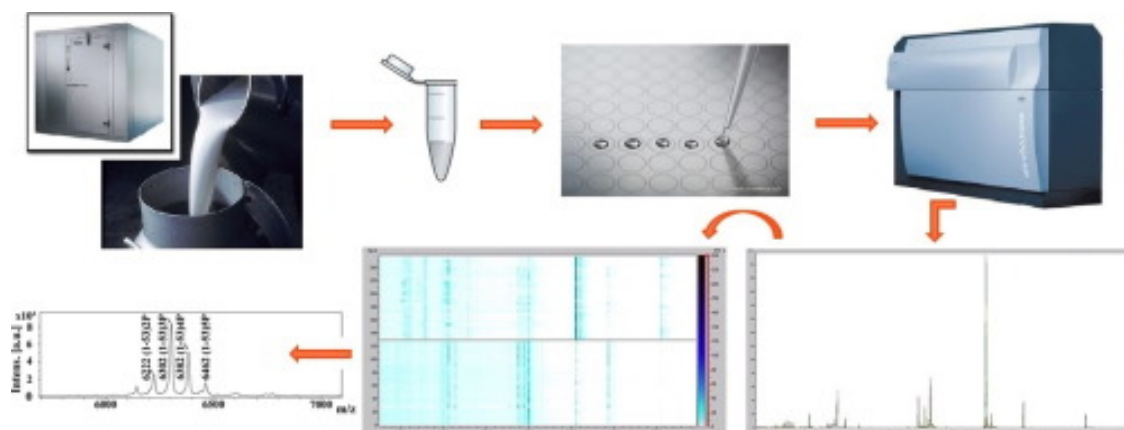
Sýr je mléčný výrobek, který obsahuje mléčnou bílkovinu, tuk a ostatní složky mléka. Zvýšená průmyslová výroba sýrů vede k velkému objemu syrovátky jako vedlejšího produktu, který poskytuje levný zdroj syrovátkových bílkovin, běžně používaných pro falšování potravin (Poonia et al. 2017). V kravském mléku jsou čtyři hlavní typy kaseinu (α S1, α S2, β , κ -kasein). Při výrobě sýra se naruší polypeptidový řetězec v místě mezi 105-106 aminokyseliny κ -kaseinu pomocí enzymu chymozin a vznikají dvě části. První část (1-105) para- κ -kasein a druhou částí je (106-160) kaseinmakropeptid, která je hydrofilní a přechází do syrovátky. V Brazílii se začaly objevovat podvody falšování mléka tím, že do mléka přidávali syrovátku, tím se navýší obsah bílkovin v mléce. Standardní stanovení bílkovin podle Kjeldhala není rozhodující pro takové odhalení. Bylo by možné ji odhalit podle analýzy vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzní fází (RP-HPLC), nebo tandemové hmotnostní spektrometrie podle velikosti kaseinmakropeptidu (Motta et al. 2014).

Mléko a syrovátka sdílí stejné matrice, což naznačuje, že změny ve fyzikálně-chemických vlastnostech mléka po přidání syrovátky nejsou zřejmé. Takové zjištění změny pomocí testování kvality, které se běžně provádí při příjmu syrového mléka v mlékárně je náročné. V závislosti na počátečním obsahu tuku v syrovém mléce je možné přidat až 10% syrovátky bez odhalení. Před analýzou HPLC se kaseinmakropeptid podrobí izolaci pomocí kyseliny trichloroctové, což způsobí vysrážení dalších rozpustných proteinů ve vzorku. Po vysrážení se musí vzorek přefiltrovat a detekce se provádí pomocí metody HPLC s obrácenými fázemi. V ideálním případě výška píku kaseinmakropeptidu ≤ 30 ml/dl znamená, že použité syrové mléko je autentické. Naopak vyšší vrcholy mohou znamenat, že syrové mléko bylo pravděpodobně narušeno syrovátkou. Standardní křivky pro HPLC byly připraveny v deionizovaném vodním roztoku 1:10 (hmotn./hmotn.) (de Pádua Alves et al. 2018).

Příkladem falšování mléčného výrobku, aniž bychom přidávali jakoukoliv přísadu navíc je Mozzarella di Bufala Campana. Jedná se o měkký natažený tvarohový italský sýr vyrobený z čerstvého buvolího mléka, které bylo získáno z chráněného označení původu (CHOP). Sezonní dostupnost mléka je hlavním problémem pro produkci mozzarely celoročně, tak jak by si spotřebitelé přáli. Za účelem uspokojení poptávky se buvolí mléko zamrazí. Problém zmrazeného mléka je změna organoleptických vlastností konečného produktu, která nastává díky aktivitě proteáz probíhajících stabilně i při nízkých teplotách. Na odhalení, zda byla mozzarella vyrobena z čerstvého či zmrazeného mléka, můžeme použít metodu MALDI-TOF MS. Metoda zkoumá markery, které právě vznikají díky proteázám stabilních i při nízkých teplotách. Jsou to například α -laktalbumin, β -laktoglobulin, či fosfopeptidy odvozené od β -kaseinu (Arena et al. 2016).

Dále Arena et al. (2016) ve své práci uvádí postup stanovení profilů polypeptidů. Vzorky mléka byly odtučněny odstředěním při 3000 otáčkách za minutu, 30 minut při 4 °C a poté zředěné 1:100 vodou před MS analýzou. Pro měření profilování polypeptidu MALDI-TOF MS byl každý odtučněný zředěný vzorek mléka smíchán 1:1 s roztokem kyseliny sinapinové (10 mg/ml) a 30% acetonitrilu. 1 μ l této směsi byl umístěn na Ground Steel Target (Bruker Daltonics) a sušený při teplotě místnosti. Analýza MALDI-TOF MS byla provedena za použití hmotnostního spektrometru Ultraflex Extreme (Bruker Daltonics) vybaveného softwarem. Spektra byla zaznamenána v pozitivním lineárním režimu (laserové frekvence, 1 000 Hz; napětí

prvního zdroje 25,19 kV, napětí druhého zdroje 23,59 kV; napětí čočky 7,50 kV; rychlostí vzorkování 0,31; hmotnostním rozsahem 5 000-20 000). Pro každý vzorek bylo automaticky získáno pět nezávislých spekter (1 000 ran/spektrum v náhodných polohách na stejném cílovém místě). Autor také dochází k závěru, že metoda je vhodná pro odhalení falšování. Také stanovil markery, které se vyskytují v čerstvém a ve zmraženém materiálu mléka.



Obrázek 3 – grafické schéma stanovení pro odhalování falšování pomocí metody MALDI-TOF MS (Arena et al. 2016)

Popularita produktů s chráněným označením původu (CHOP) stále roste, mezi ně patří například polský sýr Oscypek. Jeho charakteristikou jsou chemické, mikrobiální a smyslové znaky, které jsou zásadní pro odlišení od produktů bez označení CHOP, i přesto jsou však tyto výrobky vystaveny podvodům. Mezi nejčastější falšování patří částečné či úplné nahrazení autentického materiálu za levnější a více dostupnou surovinu. Pravost Oscypek je spojená s faktory jako je zeměpisná oblast produkce, materiálu (ovčí mléko) a tradiční technologie. Syrové ovčí mléko by mělo být získáváno z plemen horských ovcí, ale přidávání kravského mléka je do určité míry povoleno. Tradiční technologie je založená na ručním zpracování a použití dřevěných nástrojů, které navyšuje cenu konečného výrobku. Tento náročný proces se často falšuje průmyslovou, a tudíž méně náročnou metodou. Pravost jde odhalit pomocí chromatografických metod například SPME (mikroextrakcí na pevné fázi) s kombinací plynové chromatografie s MS. Metoda je vhodná pro analýzu těkavých sloučenin (Majcher et al. 2015).

Postup stanovený metodou SPME popisuje ve své práci Majcher et al. (2015), kdy vzorky sýrů nastrouhl a odebral vzorek (10 g), který umístil do 40 ml lahvičky a uzavřel hliníkovým víčkem, vzorek byl inkubován 5 minut při 50 °C. Vlákno bylo vystaveno prostoru vzorku po dobu 15 minut. Po extrakci se vlákno stáhlo do jehly a okamžitě se přeneslo do injekčního portu a desorbovalo se při 260 °C po dobu 5 minut v režimu splitless. Vlákno CAR/PDMS bylo použito pro extrakci těkavých látek. Provozní podmínky GC/MS byly následující: průtok helia 0,4 ml/min a teplota pece 200 °C. Spektrometr byl provozován v elektronovém ionizačním (EI) režimu (70 eV). Zdroj iontů byl nepřímě zahříván přenosovým vedením nastaveným na 280 °C. Detekce byla provedena v režimu úplného skenování v rozsahu 33–330 m/z. Pro analýzu SPME-MS byl použitý plynový chromatograf Hewlett-Packard HP5890II spojený s kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem Hewlett-Packard 5971. Kapilární analytická kolona byla nahrazena kondenzovanou kapilární trubicí z oxidu křemičitého bez fázového

povlaku (kondenzovaný oxid křemičitý, 5 m × 0,2 mm). V závěru práce dochází k zjištění, že metoda je vhodná jak pro klasifikaci, tak rozlišení původu a pravosti sýrů.

3.5.3 Máslo

Máslo je jedním z mléčných tukových produktů, které jsou pro mlékárenský průmysl ekonomicky důležité. Má vysoký obsah cholesterolu, nasycených mastných kyselin, tokoferolů a karotenoidů (Fadzillah et al. 2017). Kvalita másla je velmi ovlivněna hladinami peptidů, aminokyselin a volných mastných kyselin, které jsou výsledkem proteolýzy a lipolýzy. Máslo je cenné jako produkt a také se vyskytuje jako složka v mnoha produktech potravinářského průmyslu (Kim et al. 2015). Vyrábí se stloukáním mléčných tukových kuliček a podle legislativy má konečný produkt obsahovat nejméně 82 % tuku (Hong et al. 2017).

Mléčný tuk je důležitou živinou a hraje klíčovou roli, jak ve výživě člověka, tak i v celosvětové ekonomice. Je také dobrým zdrojem vitamínů rozpustných v tucích (A, D, E, K) a esenciálních mastných kyselin. Skládá se hlavně z nasycených mastných kyselin, které jsou považovány za látky s nižší výživovou hodnotou než mastné kyseliny nenasycené (Kim et al. 2015). S mléčným tukem, který je jedním z nejnákladnějších ze všech jedlých tuků, se manipuluje nejčastěji. Může být přimíchán, nebo nahrazen levnějšími oleji a tuky rostlinného nebo živočišného původu (Poonia et al. 2017).

Kravské mléko obsahuje cca 3–4 % tuku a skládá se z 98 % triacylglycerolů (TAG) a 2 % jiných lipidů, jako jsou diacylglyceroly, fosfolipidy a cholesterol. Přidávání nemléčného tuku, jako jsou rostlinné oleje a tuky, do mléka a mléčných výrobků je ve většině zemí starou, přitom nezákonnou praxí a je stále běžnější a sofistikovanější. Tento přídatek pak musí být na etiketě uveden (Poonia et al. 2017).

Protože se vyrábí ze smetany, jde o velmi drahou surovinu, proto se mohou objevovat falšování přidáním rostlinných olejů, které jsou komerčně prodávány jako máslo. Správné označení by tak mělo být smíšený ztužený tuk. Pravost másla závisí na potvrzení obsahu lipidů kravského původu a odhalení je založeno na charakterizaci methylesterů mastných kyselin (zejména kyseliny máselné) pomocí GC analýzy (Hong et al. 2017).

Moderní analýzy másla začínají vzorkováním, zahříváním a protřepáváním vzorku při 32–35 °C v uzavřené nádobě, aby se vytvořila homogenní tekutá emulze. Potvrzení, zda jde o pravé máslo, závisí na obsahu lipidů pocházející z kravského mléka. Pokud tomu tak není, nebo jde o směsný tukový produkt, je důležité odhadnout relativní podíly mléčného a nemléčného tuku. Chromatografické metody k ověření pravosti másla závisí na přítomnosti methylesterů mastných kyselin. Existuje jednoduchý způsob pro stanovení volné kyseliny máselné. Začíná zmýdlením bezvodého tuku 0,5 M ethanolovým hydroxidem draselným. Po odpaření ethanolu se přidá kyselina butanová a 5% vodná kyselina fosforečná, která vysráží mastné kyseliny s delším řetězcem, zfiltruje se a může se stanovit pomocí metody GC. Metoda headspace spočívá ve zvážení tuku do injekční lahvičky s headspace, přidáním trans - esterifikačního činidla methoxidu sodného, zalepení lahvičky a provedení metody GC. Ke kontrole přesnosti metod byl použit referenční materiál (bezvodý mléčný tuk) mající ověřený obsah kyseliny máselné (Deelstra et al. 2014).

Falšování másla rostlinnými oleji, které jsou nejbohatším přírodním zdrojem fytoosterolů, snižuje relativní množství cholesterolu v másle. Zvýšení hladiny polynenasycených mastných

kyselin s dlouhým řetězcem může být jednou možností, jak odhalit falšování. Lze použít metody hmotnostní spektrometrie (například HPLC či MALDI-TOF MS) (Picariello et al. 2013). Přesný postup stanovení právě pomocí metody MALDI-TOF MS ve své práci uvádí Picariello et al. (2013). Bezvodý mléčný tuk, syntetické směsi TAG a jejich směsi se rozpustí v CHCl_3 , v koncentraci 10 $\mu\text{l/ml}$. Chloroformový roztok byl intenzivně protřepán s 1 ml vodného octanu sodného (0,5 M) jako kationizačního činidla. Alikvot CHCl_3 fáze se nanese na ocelový cíl (MALDI), který je z nerezů a předem potažený vrstvami nitrocelulózy a matrice (kyselina 2,5-dihydroxybenzoové rozpustí ve 30% acetonitrilu). Experimenty MALDI-TOF MS byly prováděny na přístroji PerSeptive BioSystems (Framingham, MA) Voyager DE-Pro, vybaveném N₂ laser (337 nm, šířka impulsu 3 ns a opakovací frekvence 20 Hz). Hmotnostní spektra byla získána v režimu reflektorových iontů pomocí technologie Delayed Extraction, která zkoumala rozsah 400–1 000 m/z. Přístroj pracoval s urychlovacím napětím 20 kV. Bylo získáno 250 laserových pulzů pro každé hmotové spektrum. Hmotnostní spektra byla zpracována pomocí softwaru Data Explorer 4.0 (PerSeptive BioSystems). Dále ve své práci srovnává s metodou NMR a přichází k závěru, že sice metoda NMR je rychlejší a nepotřebuje tak velkou přípravu, ale není tak citlivá na odhalení falšování.

V poslední době se sádlo běžně používá jako tuková surovina živočišného původu v potravinářských výrobcích. Na přítomnost sádla v takových výrobcích lze nahlížet ze dvou pohledů. Z ekonomického hlediska některé potravinářské výrobky vytvářejí dobré směsi se sádlem, jako například margaríny. Z hlediska náboženství (Islámu a Judaismu) jsou svým stoupencům přísně zakázány konzumace a užívání potravin, které obsahují sádlo nebo jiné příměsi pocházejících z vepřů. Pro odhalení sádla lze použít metodu HPLC (Fadzillah et al. 2017). Stanovení pro složení triacylglycerolů, které bylo analyzováno pomocí HPLC s reverzní fází (Waters, Milford, MA) ve spojení s detektorem indexu lomu popisuje ve své práci Fadzillah et al. (2017). Vzorky oleje byly zředěny v acetonu (1:9 obj./obj.) a přímo vstříknuty do přístroje (HPLC). Byl použitý sloupec LiChroCART 100-RP-18 (12,5 cm × 4 mm; tloušťka 5 μm). Mobilní fáze sestávající z acetonu a acetonitrilu (63,5:36,5 obj./obj.) průtok byl nastavený na 1 ml/min při 30 °C. Pro každou analýzu bylo do systému HPLC nastříknuto 10 μl roztoku vzorku. Píky TAG byly analyzovány pomocí softwaru Empower a identifikovány na základě retenčního času standardů TAG. Tato metoda je rychlá, nedestruktivní a snadno použitelná. Vysoká přesnost metody je požadavek kontroly kvality v mlékárenském průmyslu produktu. Kombinace H-NMR a HPLC může být silná alternativa pro identifikaci falšování sádla v másle.

Tepelně vyčištěný mléčný tuk (Ghí) je považován za lepší než ostatní tuky, zejména proto, že má delší trvanlivost a mohou ho konzumovat i lidé, kteří mají alergii na laktózu. Má významné místo v lidské stravě díky své dobré chuti, příjemné vůni, vysoké odolnosti vůči teplu (takže je vhodný při vaření či smažení) a přítomnosti esenciálních mastných kyselin. Je zdrojem hodnotných živin, jako jsou vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K) a řetězcové mastné kyseliny. Ghí je lépe stravitelné a je také prokázáno, že podporuje růst bifidobakterií (probiotických střevních bakterií). Ghí byl prohlášen za produkt, který posiluje nervovou soustavu a je schopen zlepšovat psychický stav. Jde o drahý mléčný výrobek, který stojí nejméně třikrát až čtyřikrát více než jedlé oleje (v České republice se tržní cena pohybuje 400 Kč za litr, zatímco u jedlých olejů se cena pohybuje od 20 Kč za litr) (Upadhyay et al. 2017).

V Indii je Ghíí známo pro svou tradiční popularitu a obvykle se připravuje tavením (zahříváním za stálého míchání) másla, což vede k téměř 100 % bezvodému mléčnému tuku. Definice popisuje Ghíí jako bezvodý tukový produkt získaný výhradně z kravského nebo buvolího tuku, či jejich směsí. Neobsahuje rostlinný olej ani jiný živočišný tuk, pokud ano jde o formu falšování. Odhalit je lze pomocí analýzy triacylglycerolu, za použití sloupcové, nebo kapilární kolony spojenou s plynovou chromatografií s nízkým rozlišením (Amrutha Kala 2013). Postup stanovení pomocí metody GC s nízkým rozlišením popisuje ve své práci Amrutha Kala (2013). Jako nosný plyn byl použitý dusík. Při průtoku kolony 1,20 ml/min nosného plynu dusíku se použil kapilární kolona HP-5 o délce 25 m, s dělicím poměrem 1:10. Chromatografické podmínky byly následující: počáteční teplota pece 200 °C byla zvýšena na 325 °C rychlostí 5 °C/min a udržována na konečné teplotě po dobu 10 minut. Teplota injektoru a detektoru byla 330 °C, respektive 360 °C. Autor dochází k závěru, že falšování Ghíí je častější u menších prodejců než při průmyslové výrobě.

3.5.4 Med

Med je přírodní směs látek produkovaná včelami *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 z nektaru rostlin, nebo exkrecí hmyzu sajícího nektar z povrchu rostlin. Skládá se ze směsi cukrů (převážně glukózy a fruktózy), vody a dalších stopových prvků (proteinů, enzymů, aminokyselin, organických kyselin, karotenoidů, vitamínů, minerálů, pigmentů a těkavých aromatických sloučenin). Chuť se skládá z komplexní směsi mnoha sloučenin, včetně alkoholů, aldehydů, ketonů, esterů, sulfidů a volných mastných kyselin (ElMasry et al. 2019).

Klíčové faktory jsou složení, barva, aroma, chuť, které mohou být ovlivněny zdrojem nektaru, zeměpisným regionem, sezonními podmínkami, výrobou, zpracováním, balením či skladováním. Med se může v průběhu času měnit a degradovat v důsledku přírodních enzymů, vysoké teploty a prodloužení doby skladování. To může vést k tvorbě nových složek, jako jsou furany, aminokyseliny, alkoholy, fenolové sloučeniny (Da Silva et al. 2016).

Ověřování potravin je důležitým aspektem kontroly kvality a bezpečnosti potravin. Med je jedním z nepřírozenějších a nejoblíbenějších potravin na světě. Rychlou a spolehlivou metodou ke stanovení zeměpisného původu medu je metoda založená na „otisku prstu“ a čárového kódování proteinů v medu pomocí hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpční ionizační dobou letu (MALDI-TOF MS) (Wang et al. 2009).

Přesný postup stanovení pro ověření medů uvádí ve své práci Wang et al. (2009). Každý vzorek byl před analýzou v zařízení GC/MS, nebo APCI-MS zředěný deionizovanou vodou (v poměru 5:1), a míchán, dokud se dokonale nespojí. Poté bylo odebráno 8 ml na stanovení a přidáno 20 µl roztoku, který byl vyrobený z 10 µl 3-heptanonu do 10 ml methanolu a stanovuje se pomocí metody. Vzorkovou maticí MALDI byla R-kyano-4-kyselina hydroxyskořicová (HCCA) rozpuštěná ve 30% vodném acetonitrilu obsahujícího 0,1% kyselinu trifluoroctovou (TFA) v koncentraci 5 g/l. Alikvot 1 µl roztoku HCCA byl ručně nanesen na připravenou standardní destičku MTP (Bruker Daltonics). Po vysušení byl vzorek analyzován na Bruker Daltonics UltraflexIII TOF MS vybavený laserem Smartbeam. Hmotnostní spektra jednotlivě a mnohonásobně nabitých iontů byla získána v lineárním pozitivním režimu se zdrojem 1 a zdrojem 2 napětí nastaveným na 25 kV. Na základě standardní směsi 1 000-10 000 Da proteinů pro kalibraci bylo v této studii optimalizováno pulzní napětí

na 1,5 kV. Napětí detektoru bylo nastaveno na 1,4 kV. Ionty v rozmezí 1 000 až 10 000 m/z byly detekovány při vysokém rozlišení s potlačovacím hromadným hradlem nastaveným na 500 m/z. Spektra byla automaticky získána pomocí softwaru Bruker Flexcontrol s fuzzy kontrolou intenzity laseru. Pokud metoda bude propojena s PCA metodou (analýza hlavních komponent; principal component analysis), stává se rychlou a snadnou pro určení zeměpisného původu a ověření pravosti medu.

Vzhledem k omezené úrovni výroby, dostupnosti a relativně vysoké ceně medu, může být falšován. Nejčastější přímou formou narušení medu je zředění medu vodou, přidání levných sladidel (kukuřičný sirup, invertní cukrový sirup, sirup s vysokým obsahem fruktózy nebo maltózy) nebo formou nepřímou, kde se včely krmí cukrovým sirupem. Obecně platí, že pokud produkt není čistý med, nesmí tak být označován. Takový med se může odhalovat například fyzikálně-chemickými metodami (hustota, elektrická vodivost, optická otáčivost a jiné). Nově rozvíjející se metodou na určení autentizace medu je technika iontové chromatografie, která závisí na extrakci a analýze těkavých sloučenin, zahrnující aldehydy, ketony, kyseliny, estery, terpeny a jiné. Metoda, která se používá pro odhalení falšování medu invertním cukrovým sirupem, je hmotnostní spektrometrie pro plynovou chromatografii s mikroextrakcí na pevné fázi (HS-SPME/GC-MS) (ElMasry et al. 2019).

Autor ve své práci popisuje přesný postup stanovení. Před analýzou bylo vlákno SPME předběžně upraveno v injekčním portu systému plynové chromatografie (60 minut při 270 °C). GC/MS byla podporována předprogramovanou robotickou vzorkovací jednotkou SPME pro automatickou kontrolu procesů kondicionování, extrakce a vstříkávání. SPME má vlákno StableFlex o délce 2 cm s divinylbenzenem/karboxenem 50/30 µm na polydimethylsiloxanovém povlaku (DVB/CAR/PDMS), aby zachytilo všechny možné těkavé sloučeniny v prostoru nad hlavou. Po dokončení extrakčního kroku se SPME vlákno stáhlo z lahvičky a vložilo se do injekčního portu GC/MS, kde byly těkavé sloučeniny tepelně desorbovány po dobu 2 minut a přenesly se přímo do analytické kolony. Trace GC Ultra (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) připojený k hmotnostnímu spektrometru řady TSQ (Thermo Scientific) byl použit k analýze těkavých látek v elektronovém ionizačním režimu s teplotou zdroje iontů 200 °C a skenovaným rozsahem hmotností m/z 30–300. Těkavé sloučeniny byly separovány v zařízení GC pomocí kapilární kolony oxidu křemičitého z taveného ZB-Wax (100% polyethylenglykol fáze, 30 m, 0,25 mm, 1,0 µm). GC pec byla udržována při 40 °C po dobu 3 minut, poté zahřátá na 160 °C při 4 °C/min, následně zvýšená na 200 °C při 10 °C/min, nakonec zvýšená na 230 °C při 125 °C/min a poté udržována konstantně při této teplotě po dobu 5 minut. Hélium byl použitý jako nosný plyn s konstantním průtokem 1,0 ml/min v nerozděleném režimu spektrometrie. Identifikace těkavých sloučenin byla potvrzena výpočtem Kovatsových lineárních retenčních indexů (RI). Autor také dochází k závěru, že navrhovaná metoda by mohla být snadno použita k rozpoznání identity medu a přítomnosti určitých neočekávaných sloučenin, jako jsou například cukrové sirupy. V ideálním případě by měl ideální scénář začít nejprve identifikací klíčových těkavých sloučenin pomocí systému GC/MS a poté využít jejich odpovídající fragmentové ionty ve zvoleném iontovém režimu pro analýzu v reálném čase v systému APCI-MS (ElMasry et al. 2019).

3.5.5 Maso a masné výrobky

Maso je kosterní svalstvo živočichů, včetně ryb a bezobratlých, v čerstvém nebo upraveném stavu, které se hodí pro lidské stravování. Patří mezi základní dietní potraviny, které obsahují vysoký podíl snadno stravitelného proteinu, vysoce kalorického tuku, vitamínů (B₁₂ a D) a minerálních látek (například železa). Všechny tyto složky jsou nezbytné pro správné fungování metabolických procesů. Potravinářské výrobky živočišného původu jsou však nejvíce náchylné k mikrobiální kontaminaci oxidací lipidů v důsledku vysokého obsahu tuku a vody, přičemž k této degradaci kvality dochází na různých úrovních výrobního řetězce, jako je příprava, skladování a distribuce. Primární faktory, které se podílejí na zhoršování čerstvosti a kvality masných výrobků jsou barva, textura a zápach (Ahmed et al. 2018).

V poslední době se zvýšil zájem o pravost masa. Mnoho spotřebitelů si je vědomo původu, přesného složení a přísad. Spotřebitel chce, aby se zabránilo falšování masa a masných výrobků. Lze odhalovat druhy masa, jeho zpracování (vařené, čerstvé, či rozmrazené), zeměpisný původ a přidání nemasných přísad (voda, ochucovadla, plnidla) (Hong et al. 2017). Existuje několik zpráv o podvodném nahrazování masa s vyšší hodnotou masem o nižší hodnotě nebo použití rostlinných bílkovin, jako je sója, namísto svalových bílkovin (Rahmati et al. 2016).

Celosvětově konzumovaná masa jsou hovězí, vepřové, drůbeží, ovčí, kozí a buvolí. Mohou se ale konzumovat i jiné živočišné druhy jako jsou koně, pštrosi, velbloudi, jaci a zvěřina. Masné výrobky lze definovat jako zpracované produkty, které jsou výsledkem zpracování masa, na jehož řezu lze vidět, že takový výrobek už není čerstvý. Kvalitu a bezpečnost masných výrobků mohou ohrozit látky, které prodlužují údržnost produktu, nebo zvýšení hmotnosti (přidání cizích bílkovin s nízkou nutriční hodnotou). Mohou se používat přídavné látky s několika omezeními. Jde například o barviva (kyselina karmínová, karamely), konzervační látky (siričitany, acetáty), regulátory kyselosti (askorbáty, laktáty, citráty a fosfáty) či dusitany a dusičnany, který zabraňují růstu *Clostridium butulinum* a dělají červenou či růžovou barvu fermentovaným výrobkům (Iammarino et al. 2017).

Pravost a sledování masných výrobků jsou základními kroky k zajištění bezpečnosti potravin. Podle evropské legislativy sledovatelnost znamená schopnost sledovat jakékoliv jídlo, krmivo, zvířata určená k produkci, nebo spotřebovanou látku ve všech fázích výroby, zpracování a distribuce. Vysledovatelnost navíc znamená zavedení kontrolního systému pro hygienu a bezpečnost potravin. Umožňuje ochranu spotřebitelů před možnými podvody, záruky proti riziku jako jsou například alergické reakce, nesnášenlivost určité potraviny nebo přísady. Ty poté umožňují individuální výběr potravin například pro náboženské nebo zdravotní důvody. Pravost potravin je také problémem pro spotřebitele, kteří si vyberou určité potravinové výrobky podle svého složení. Příkladem je rostoucí zájem muslimské komunity o certifikaci „halal“ masa, které je vyhledáváno stále rostoucím počtem muslimských spotřebitelů (Basanisi et al. 2019).

Při sledování masa je důležité znát jeho původ. A to jak původ syrového, tak i kulinářsky zpracovaného masa například v restauracích. Pomocí shlukování extrahovaných proteinů lze odhalit jeho původ. To znamená, jestli maso pocházelo z hovězího, vepřového, kuřecího masa apod. Původ lze stanovit pomocí metody MALDI-TOF MS. Vzorke byly připraveny za účelem extrahování proteinů, poté analyzovány pomocí lineárního systému (Flaudrops et al. 2015).

Metodu MALDI-TOF MS používá ve své práci Flaudrops et al. (2015). Profily hmotnostních proteinů byly získány pomocí hmotnostního spektrometru Microflex-LT lineární MALDI-TOF se zabudovaným softwarem. Měření byla prováděna v režimu lineárního pozitivního iontu, mezi 2 kDa a 20 kDa, a každé spektrum odpovídalo iontům získaným z 240 laserových výstřelů provedených v šesti oblastech stejného místa. Parametry byly nastaveny následovně: zdroj iontů 1=20 kV; zdroj iontů 2=18,05 kV; čočka=6,00 kV; pulzní extrakce iontů=10 ns; a detekce zisku=14×. Získaná spektra byla zpracována za použití FlexAnalysis 3.3 a MALDI Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics). Svým výsledkem autor pozoruje, že pomocí metody MALDI-TOF MS lze rozeznávat druhy masa, jak v syrovém, tak i kulinářsky upraveném vzorku masa. Avšak je nutné podotknout, že by bylo vhodné použít jiný software, protože zmíněný Biotyper měl malé rozlišení.

Anhydridy kyseliny siřičité a jiné siričné soli, které mohou uvolňovat SO₂, představují sloučeniny, které se používají v potravinářství ke konzervaci potravin. Po přidání do potravin mění mikroflóru suroviny, což je důležité pro řízení fermentačního procesu. Pro masný průmysl je povoleno u masných polotovarů (hamburger, čerstvé klobásy, mleté maso atd) maximální množství 450 mg/kg. Pokud bude hranice překročena, může jít o falšovanou potravinu v důsledku toxických účinků na člověka. Pro odhalení se mohou použít metody enzymatické. Moderní metody používají techniky kapilární elektroforéza (CE), analýzy průtokovým vstříkáváním, či vysoce účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Stanovení siřičitanu v masných výrobcích není snadné vzhledem vysokému obsahu tuku a přítomností rušivých sloučenin (fosfáty, sulfáty, kyselina askorbová). Pokud jde o analýzu masných výrobků, Iammarino et al. (2017), navrhl přesnou chromatografickou metodu založenou na sulfítové extrakci „stabilizačním“ roztokem složeným z fruktózy, NaOH a EDTA a následnou separaci potlačenou iontovou chromatografií s detekcí vodivosti. Tento postup se vyznačuje vysokou specifičností a dobrou citlivostí (Iammarino et al. 2017).

Přesný postup stanovení publikoval autor už dříve ve své práci. Nejprve si připravil homogenní vzorek (4 g například čerstvé klobásy), který smíchal se 40 ml stabilizačního roztoku a třepal v horizontální třepačce po dobu 30 minut. Poté odstředil (5 min při 1200 ot/min při teplotě místnosti) a následně pomocí filtrace získal extrakt pro chromatografickou analýzu. Separace byly provedeny na systému Dionex (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA) složeném z kvartérního gradientového čerpadla GP50, elektrochemického detektoru (model ED40) nastaveného do vodivostního režimu, vybaveného teplotně kompenzovanou vodivou buňkou a vstříkovacím ventilem Rheodyne (model RH9125, Cotati, CA, USA) s injekční smyčkou 25 µL. Pro elektrochemické potlačení byl použit samoregenerační supresor Dionex anionu (ASRS II, 4 mm) při provozním proudu 50 mA. Všechny separace byly prováděny za použití kolony IonPac AS9-HC (250 mm × 4 mm, velikost částic 9 µm) eluované v gradientovém režimu při průtokové rychlosti 1,0 ml/min. Mobilní fáze se skládala z 8 mM Na₂CO₃ a 2,3 mM NaOH (A) a 24 mM Na₂CO₃ (B). Zásobní láhve byly uzavřeny a naplněny čistým dusíkem, tlak nastavený na 0,8 MPa. Systém byl propojen pomocí proprietárního síťového chromatografického softwaru (PeakNet™). Autor také dochází k závěru, že metoda nabízí zajímavé výhody, jako je přesnost, rychlost a automatizace, aniž by bylo třeba pracné předúpravy vzorků. Navrhovanou metodu lze také považovat za významné zlepšení oproti jiným existujícím chromatografickým metodám, ve kterých není dostatečně dosaženo opakovatelnosti a rozlišení od rušivých vrcholů (Iammarino et al. 2010).

Želatina je odvozený protein připravený z kolagenu extrahovaného z kosti, šlach a volně pojivové tkáně. Z prasat je relativně levná, snadno dostupná a přítomná v mnoha potravinových přípravcích jako jsou bonbóny a dezerty. Její původ představuje vážný problém, protože Islám a Judaismus zakazují konzumaci jakýchkoliv potravin pocházejících ze zdrojů vepřů. V důsledku toho je nezbytná spolehlivá technika detekce vepřové želatiny. Aby se ochránil konečný spotřebitel a také aby došlo k ujištění spotřebitele, že se s těmito potravinami nebylo úmyslně, či neúmyslně manipulováno. Želatina je štěpena na peptidy, které se pak mohou analyzovat pomocí metody MALDI-TOF MS. Hmotnostní spektra umožňují detekovat a odlišit vepřovou a hovězí želatinu na základě specifických píků (Flaudrops et al. 2015).

Postup stanovení popisuje ve své práci právě Flaudrops et al. (2015). Hmotnostní spektra byla monitorována s použitím reflektorového MALDI-TOF Ultra fl ex I hmotnostního spektrometru (Bruker Daltonics, Wissembourg, Francie). Měření byla prováděna v módě pozitronových iontů mezi 700 a 4000 Da. Hmotnostní spektra byla interně kalibrována pomocí autolytických peptidů z trypsinu. Parametry byly nastaveny následovně: zdroj iontů 1=25 kV; zdroj iontů 2=21,45 kV; čočka=10 kV; reflektor 1=26,5 kV; reflektor 2=14,21 kV; pulzní extrakce iontů=10 ns; detekce zisku=12×. Vzorky byly analyzovány pomocí softwaru FlexAnalysis 3.0. A ve své práci také dochází k závěru, že pomocí metody MALDI-TOF MS lze ve vzorku odhalit želatinu i při nízkých koncentracích a určit i její původ (zda jde o vepřovou, či hovězí).

3.6 Falšování produktů rostlinného původu

3.6.1 Obiloviny

Obilniny jsou rostliny z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) využívané a pěstované zejména pro svá semena. Obiloviny jsou zrna a produkty z nich vyrobené, které slouží k lidské výživě. Ve většině zemí jsou obiloviny včetně pšenice, rýže a kukuřice hlavními zemědělskými produkty. Cena obilovin je určována hlavně obsahem bílkovin, obsahem škrobu, či tvrdostí zrna (Hong et al. 2017).

Pšenice je jednou z nejdůležitějších plodin představující základní potravinu pro asi 40 % světové populace. Světová produkce pšenice je téměř zcela založená na pěstování dvou hlavních druhů, Pšenice obecné neboli hexaploidní (*Triticum aestivum* Linné, 1753), obvykle používaná k výrobě chleba nebo jiného pečiva. Druhou pěstovanou obilovinou je pšenice tvrdá, která je tetraploidní (*Triticum turgidum* spp. *Durum* Linné, 1753). Používá se zejména pro výrobu těstovin. Díky vlastnostem tvrdé pšenice, které jsou dány endospermem, včetně stupně adheze mezi škrobovými granulemi a matricovými proteiny, se objevuje falšování tvrdé pšenice pšenicí obecnou, která je levnější (její náklady na cenu jsou asi o 25 % nižší). Kromě genetických metod se pro odhalení mohou použít metody HPLC, ESI i MALDI-TOF MS. (Russo et al. 2014). Pokus na odlišení vzorků mouky a krupice vyrobené z pšenice tvrdé i obecné uvádí ve své práci Russo et al. (2014). Pro MALDI-TOF byl smíchán roztok s 1 μl zředěných vzorků (1:5 ve vodě obsahující 0,1% kyselinu trifluoroctovou) s 1 μl nasycené kyseliny α-kyano-4-hydroxyskořicové a matrice [10 mg/ml v acetonitrilu/vodě (1:1, objem/objem) obsahující 0,1% kyseliny trifluoroctové]. Kapička výsledné směsi (1 μl) byla umístěna na cílovou destičku MALDI-TOF micro MX (Waters, Manchester, UK). Po vysušení

byly vzorky vloženy do hmotnostního spektrometru a analyzovány. Přístroj byl externě kalibrován za použití tryptického alkoholového dehydrogenázového štěpení v módě reflektorového pozitivního iontu. Všechna spektra byla zpracována a analyzována pomocí softwaru MassLynx 4.1. V závěru práce autor pak potvrzuje teorii, že pomocí metody lze posoudit pravost produktů z pšenice tvrdé v celém potravinářském řetězci od suroviny (jader) tak až po konečné produkty (těstoviny).

3.6.2 Oleje a tuky

Olej je kapalina tvořená molekulami, které obsahují hydrofobní uhlovodíkové řetězce. Proto se oleje nerozpouštějí ve vodě. Rostlinné oleje jsou důležitou součástí lidské potravy. Používají se při finální úpravě potravin konečným spotřebitelem a jsou také součástí mnoha vyráběných potravin, například zmrzlin, cukrovinek, margarínu atd. Z chemického hlediska jsou jedlé oleje komplexní směsí obsahující širokou škálu hlavních a vedlejších sloučenin. Hlavní složkou jsou triacylglyceroly (TAG) a zbylou část tvoří volné mastné kyseliny, voskové estery, steroly, uhlovodíky, tokoferoly, fosfolipidy a jiné (Cozzolino & De Giulio 2011).

Rostlinné oleje lisované za studena, jako je například olivový, kokosový, světlicový, či pupalkový olej, jsou považovány za funkční, protože obsahují polynenasycené mastné kyseliny omega-3 (n-3) a omega-6 (n-6). Navíc když jsou získávány lisováním za studena, převyšují nutriční výhody oproti rafinovaným olejům, protože obsahují látky, jako jsou tokoferoly a steroly, které působí na lidské zdraví a slouží jako prevence nemocí (Silva et al. 2018).

Jedlé oleje a tuky používané ve studené (na saláty) i teplé kuchyni (na vaření, smažení) mají dvě základní podoby falšování. Jedná se o smíchání lisovaného oleje s olejem rafinovaným a nahrazení dražšího oleje za levnější tuk. Metody na odhalení využívají jak screening, neboli „otisk prstu“, jako je Ramanova spektroskopie, u které se zkoumá složení směsí, také se používá GC/MS, při které se zjišťuje profil masných kyselin (Hong et al. 2017).

3.6.3 Olivový olej

Olivy jsou velmi důležitou stromovou plodinou, která se dlouho pěstuje ve Středomoří. Olivovník je rod vyšších dvouděložných rostlin z čeledi olivníkovité (*Oleaceae*). Je přes 40 druhů, které jsou rozšířeny v Africe, jižní Evropě, Asii a Austrálii. Nejznámější je Olivovník evropský (*Olea europaea* Linné, 1753), jde o strom pěstovaný v jižní Evropě pro plody zvané olivy (Valière 2002).

Olivový olej je produkt s vysokou výživnou hodnotou a jeho pravidelné používání má pro zdraví významné přínosy. Kromě toho se díky své příjemné chuti a vůni stal důležitou součástí lidské stravy. Důkazy z epidemiologických studií naznačují, že vyšší podíl mononenasycených tuků ve stravě je spojen se snížením rizika srdečních chorob. Čemuž odpovídá právě olivový olej, u kterého převažuje kyselina olejová. Kromě toho existuje velké množství klinických údajů, které ukazují, že jeho konzumace může být pro srdce přínosná. Jsou to například příznivé účinky na regulaci cholesterolu a oxidaci LDL cholesterolu (lipoproteinů s nízkou hustotou; low density lipoprotein). Působí protizánětlivě, antitromboticky a antihypertenzivně. Olivový olej je nákladný produkt z důvodu náročného pěstování olivovníků (*Olea europaea* Linné, 1753). Plodina a olej z ní extrahovaný

jsou klasifikovány do skupin: extra panenský, panenský, rafinovaný, obyčejný (zde může být i směs) (Alves et al. 2010).

Na trhu se po něm objevuje vysoká poptávka, a to vede k zvýšenému zisku pro výrobce. Díky tomuto faktu se mohou výrobci uchýlit k podvodné výrobě. Extra panenský olivový olej byl falšován olejem, který je zařazen mezi méně kvalitní (rafinovaný nebo výliskový), a nebo jinými levnějšími rostlinnými oleji (např. slunečnicový, sójový, řepkový) (Hong et al. 2017).

Právě Alves et al. (2010) ve své práci provádí odhalování míchání extra panenských olejů s rafinovanými pomocí metody ESI MS. Nejprve si připravil vzorek, kdy alikvoty 100 μ l byly přeneseny do zkumavek o objemu 1,5 ml. Poté byl přidán 1 ml roztoku methanolu a vody v poměru 1:1 (obj./obj.), která obsahovala 1,0% kyselinu mravenčí. Extrakce byla prováděna za intenzivního míchání po dobu 30 sekund s použitím míchadla. Po oddělení fází (olejovitá a vodná (methanolová)) byla odebrána a analyzována malá část vodné vrstvy. Ta byla vstříkována (pomocí mikroskopické stříkačky) přímo do hmotnostního spektrometru (do iontové pasti; LCQ-Fleet, Thermo Scientific, San Jose, CA, USA), vybaveného zdrojem elektrosprejové ionizace (ESI). Analýzy byly provedeny v pozitivním iontovém režimu a typické podmínky byly následující: průtoková injektážní rychlost 10 μ l/min, kapilární teplota 300 °C, kapilární napětí 30 V a kónické napětí 3,0 kV. Následně došel autor k závěru, že pokud metoda ESI MS bude spojená například s PCA (analýzy hlavních komponent), zvýší se citlivost na odhalování falšování olivových olejů, protože přináší jednoduchý, rychlý a přesný způsob detekce.

Chemické složení olivových olejů se velmi liší v závislosti na rozmanitosti rostliny, stupni zralosti, podmínkách prostředí, pěstitelské oblasti, technice zpracování a skladování. Tyto vlastnosti se netýkají pouze složení mastných kyselin (na lipidové matrici), ale také zejména přítomnosti několika menších sloučenin, jakou jsou polyfenoly, tokoferoly a karotenoidy. Techniky na odhalení jsou například chromatografické (GC, HPLC) a spektroskopické (NIR, MS) metody. Právě metoda GC/MS je vhodná i na odhalování, zda byl olej vyrobený ručně, či strojovou výrobou. Takové odhalování je založené na zkoumání složení aroma oleje, které je způsobené aldehydy, alkoholy, ketony a estery (Hong et al. 2017).

Dhifi et al. (2005) ve své práci právě popisuje postup, kdy zkoumá aroma oleje. Nejprve vyextrahuje těkavé látky ze vzorku, které následně zkoumá pomocí plynové chromatografie. Ta byla prováděna s Erba Carlo mega Series 5160 vybavené nordion křemičité kapilární carbowx 20 μ m kolony (50 m délka 0,32 mm šířka, 0,5 μ m tloušťka filmu), která byla vybavená vstříkovacím systémem do kolony, CO₂ kryogenní příslušenstvím pro udržování pece při 25 °C a plamenovým ionizačním detektorem (FID). Program teploty pece byl provozován při 25 °C po dobu 7 minut, poté se zvyšoval o 0,8 °C/min až na 33 °C, následně 2,4 °C/min až na 80 °C a při 3,7 °C/min až na 155 °C, při které byla výdrž 20 min. Teplota detektoru byla udržována na 240 °C, s nosným plynem H₂ při 30 kPa. Vstříkovaný objem byl 0,5 μ l. Těkavé sloučeniny byly identifikovány porovnáním jejich hmotnostních spekter se spektry autentických referenčních sloučenin. Autor dochází k závěru, že hlavními aromatickými složkami jsou aldehydy, alkoholy a estery C₆. Tyto sloučeniny jsou zodpovědné za zelené atributy panenského olivového oleje. K jejich produkci dochází během drcení a lisování. Další těkavé sloučeniny, jsou ve vzorcích obsažené v menších koncentracích a záleží na kultivaru rostliny (Dhifi et al. 2005).

3.6.4 Lískový olej

Líska obecná (*Corylus avellana* Linné, 1753) je keř z čeledi břízovité (*Betulaceae*) (Michalak et al. 2013). Je široce rozšířená po celé Evropě (například Španělsko, Itálie, Řecko), ale objevuje se i v pohoří Uralu v Rusku. Hlavními produkty jsou jádra (oříšky), která se používají hlavně v cukrářském průmyslu, zatímco listy se v tradiční medicíně používají proti křečovým žilám a hemeroidům a také mají mírný antimikrobiální účinek (Riethmüller et al. 2013).

Lískové ořechy jsou vynikajícím zdrojem kvalitních lipidů, bílkovin, vlákniny, antioxidačních fenologických sloučenin, vitamínů (zejména tokoferolů) a minerálů. Lískový olej má vysoký obsah polynenasycených mastných kyselin, přičemž mono a polynenasycené mastné kyseliny tvoří 92 % z celkového počtu přítomných mastných kyselin a obsahuje nejlepší zdroj vitamínu E. Alfa-tokoferol je hlavní složkou tohoto vitamínu v lískových oříšcích, který je považován za důležitý zdroj lidské stravy. V důsledku toho je znalost kvalitní a kvantitativní distribuce charakteristických tokoferolových sloučenin v lískových olejích důležitá z hlediska kvality produktu. Lískový olej lze nalézt na trhu buď jako surový (lisovaný za studena), rafinovaný, nebo jako směs obou těchto variant. Cena rafinovaného lískového oleje v Turecku je obvykle stejná jako cena panenského olivového oleje, zejména pokud se získává z odrůd ořechů vysoké kvality. Falšování může být například přidáním slunečnicového oleje s vysokým obsahem kyseliny olejové nebo kukuřičného a sójového oleje. Odhalit je lze pomocí metody HPLC. K identifikaci falšování, za pomoci použití specifických a citlivých chromatografických postupů, slouží stanovení profilů tokoferolů a polohy triacylglycerolů, tím se potvrdí jejich pravost (Bonvehi & Coll 2009).

Postup pro stanovení, které ve své práci popisuje Bonvehi & Coll (2009) začíná vyčištěním oleje. Lískový olej byl zvážen pro kapilární chromatografii (0,10 g). Následně byl rozpuštěn za použití 6 ml hexanu a 0,2 ml methylátu draselného (2 M) po dobu 5 minut. Tato fáze byla neutralizována 0,5 g hydrogensíranu sodného (1-hydrátu). Alikvot supernatantu byl filtrován přes (0,45 μm) nylonový filtr. Kapilární chromatografie byla prováděna na plynovém chromatografu HP model 5890 vybaveném automatickým vzorkovačem HP model 7673, detektorem plamenoionizace (FID) a byl použitý integrátor (HP Vectra XA) (Agilent, Avondale, PA, USA). Separace byla provedena kapilární kolonou SP-2330 (30 m \times 0,25 mm s průměrem 0,2 μm). Teplota vstřikovače byla 210 $^{\circ}\text{C}$; teplota detektoru byla 220 $^{\circ}\text{C}$; teplota kolony byla udržována na 160 $^{\circ}\text{C}$; průtok štěpným zařízením byl 90 ml/min; vstřikované množství bylo 1 μl ; celkový čas 40 min; helium bylo použito jako nosný plyn v množství 1,3 ml/min, zatímco doplňovacím plynem byl dusík. Poté byla prováděna metoda HPLC v systému skládající se z pumpy Waters 600, 715 plus autosampleru, detektoru modelu RI 410 a inteligentního vzorkovacího procesoru 712 vod (WISP), který byl vybaven vstřikovací smyčkou s reodynovou chlopní o objemu 20 μl (vše od Waters Chromatography Division, Milford, MA, USA). Kolona Lichrosorb 100 RP-18 (250 mm \times 4 mm, průměr 5 μm) byla použita s mobilní fází acetonu a acetonitrilu (70:30) při 1 ml/min izokratickým elučním tokem. Autor ve svém pokusu měl 2 typy falšování, a to přidání 5% a 20% jiného oleje a také potvrzuje, že při takovém falšování je metoda HPLC schopná jej odhalit.

3.6.5 Sezamový olej

Sezam indický (*Sesamum indicum* Linné, 1753) patří do čeledi sezamovitých (*Pedaliaceae*), je jednou z nejstarších plodin olejnin známých lidem a je ceněn pro svůj vysoce kvalitní olej. Sezam je jednoletá plodina dosahující výšky až dvou metrů. Sezam indický je široce rozšířen v tropických oblastech (Dixit et al. 2005). Sezamový olej obsahuje velké množství účinných látek, které mají příznivé účinky na zdraví, jako jsou antioxidační a kardioprotektivní účinky. Kromě toho má příjemnou chuť a specifický zápach. Ve srovnání s jinými druhy rostlinných olejů, jako je kukuřičný a palmový, je sezamový 5–10× dražší. V důsledku toho může být falšován levnějšími rostlinnými oleji, jako jsou sójový, kukuřičný, nebo řepkový olej. Bylo vyvinuto několik metod pro detekci falšování, které určí, zda byl sezamový olej falšován, například smícháním s jiným olejem. Takové metody jsou například GC pro stanovení poměru mastných kyselin a izotopu uhlíku, nebo HPLC pro analýzu triacylglycerolů (Rohman & Man 2011).

Pro odhalování falšování olejů existuje několik metod. Rohman & Man (2011) popisují metodu GC. Nejprve v centrifugační zkumavce bylo 100 mg oleje, poté bylo přidáno 1,2 ml hexanu a 0,25 ml methoxidu sodného 2 M v bezvodém methanolu. Směs byla intenzivně míchána za použití míchadla při 2200 ot/min po dobu 60 s, aby se oddělil glycerolát sodný, ke směsi se následně přidalo 0,5 ml nasyceného chloridu sodného a míchalo se po dobu 15 s. Následně byl 1 μ l čirého supernatantu injikován do RTX kapilární kolony (vnitřní průměr 0,25 mm, délka 30 m a tloušťka filmu 0,2 μ m) a analyzován pomocí plynového chromatografu (Shimadzu, GC - 2010, Shimadzu Corp., Tokio, Japonsko), vybaveného FID. Teplota v troubě byla programována následovně: počáteční teplota byla 100 °C (udržování po dobu 1 minuty), poté se zvýšila na 180 °C (8 °C/min), a následně vzrostla ze 180 na 240 °C (10 °C/min). Nakonec udržovala při 240 °C po dobu 5 minut. Teploty detektoru a injektoru byly během analýzy udržovány na 240 °C. Průtok nosného plynu (helium) byl 6,8 ml/min. Kvantifikace mastných kyselin (procento mastných kyselin) byla vypočtena na základě její plochy píku pomocí interní normalizační techniky. V závěru dochází autor k názoru, že pomocí metody GC/MS lze odhalovat falšování olejů. Lze tak učinit pomocí změn profilů mastných kyselin (zejména kyseliny palmitové, stearové, olejové, linolové a linolenové).

3.6.6 Káva

Káva je nápoj připravený z upražených a rozemletých plodů kávovníku. Označují se tak i samotná semena celá nebo rozemletá na prášek. Káva obsahuje kofein, který stimuluje centrální nervový systém a činnost srdce. Je rozdělena na několik druhů. Zelená káva se získává sušením semen kávovníku rodu *Coffea* a byla zbavena pergamenové slupky. Pražená káva vzniká pražením zelené kávy. Mezi další druh se řadí i pražená káva bez kofeinu. Taktéž se získává pražením zelené kávy, musí však obsahovat nanejvýš 0,1 % kofeinu. Celosvětová produkce kávy v posledních dvou desetiletích neustále roste. Falšování pražené kávy je velmi časté a velice rozmanité. Může zahrnovat jakost zrn (druh, zeměpisný původ, poškozenost zrna), i přidávání dalších látek (kávové slupky, stonky, kukuřice, ječmen) do kávových směsí s cílem snížit jejich cenu. Kávovníků existuje velké množství (přibližně přes 120 druhů).

Světová produkce kávy však pochází ze dvou hlavních druhů: *Coffea arabica* Linné, 1753 (káva arabica) a *Coffea canphora* Linné, 1753 (káva robusta) (Daniel et al. 2018).

Arabica je pro spotřebitele ceněná kvůli své intenzivní vůni, nízké hořkosti a nízkému obsahu kofeinu. Její zrna lze prvně sklízet až po šesti letech. Zatímco robusta má trojnásobně větší obsah kofeinu, má svou typickou hořkou, zemitou až dřevitou chuť, ovšem její zrna lze sklízet již po druhém až třetím roce a jsou odolnější vůči škůdcům. Všechny tyto důvody se odráží i na ceně, která je v případě arabicy vyšší než kávy robusty. Důkaz pravosti a odhalení podvodů, které se týkají přimíchání levnějších kávových zrn robusty do vysoce kvalitní kávy arabica, je například Fourierova transformační iontová cyklotronová rezonanční hmotnostní spektrometrie (FT-ICR-MS). Ta je vhodná pro identifikaci hlavních polárních sloučenin ve vodných kávových extraktech a pro kvantifikaci směsí dvou nejběžnějších kávových odrůd (Hong et al. 2017).

Tsukui et al. (2019) ve své práci popisuje postup stanovení pomocí této metody. Vše začíná úpravou vzorků. Kávová zrna byla zmrazena v tekutém dusíku, rozemleta a přesátá na sítu (velikost 0,5 mm). Přibližně 1 g mleté kávy se extrahoval se 4 ml směsí methanolu a vody (4:1) v ultrazvukové lázni po dobu 20 minut, poté byl filtrován a zředěn (1:10) s 0,1% roztokem hydroxidu amonného před vstříkem do hmotnostního spektrometru. Extrakty vzorků byly analyzovány pomocí 7,2T LTQ FT Ultra hmotnostního spektrometru (Thermo Scientific, Bremen, Německo) vybaveného čipem založeným na přímé infuzi nanoelektrosprejového ionizačního zdroje (Advion BioSciences, Ithaca, NY, USA) pracujícího v negativním iontovém režimu za následujících podmínek: kapilární napětí 1,6 kV, trubicová čočka 160 V, teplota 270°C a energie fragmentace 10–40 eV. Data byla získána po dobu 3 minut v rozsahu m/z 100–1000 pomocí softwaru Xcalibur 2.0. Autor také dochází k závěru, že přímá analýza extraktů zelených kávových zrn pomocí methanolu a vody s přesným a vysokým rozlišením (ESI, FT-ICR-MS) vedla k identifikaci 33 sloučenin. Mezi nimi, glykosylované atractylogenins a carboxyatractylogenins, které jsou důležité jako chemické markery pro odlišení rozmělněných přírodních káv. Případná změna koncentrací je způsobená změnou klimatu, zpracováním a manipulací kávy (Tsukui et al. 2019).

Mletá káva může být falšovaná například přidáním pražených sójových bobů nebo pšenice. Existuje mnoho druhů chemických ukazatelů pro detekci falšování kávy, jako jsou monosacharidy, aminokyseliny, lipidy a bioaktivní látky například trigonellin. Během procesu pražení je vystaven trigonellin tepelnou degradací a vytváří řadu těkavých sloučenin. Dimetylací trigonellinu během pražení kávy se vytváří kyselina nikotinová a ve vodě rozpustný vitamín B₃, známý také jako niacin. Mezi běžné metody používané pro stanovení falšování mleté kávy patří vysoce účinná kapalinná chromatografie (HPLC) s detekcí fluorescence, absorpce ultrafialového záření (UV), detekce diodového pole, nebo metoda GC/MS (Song et al. 2019).

Pokus, kdy se úmyslně smíchává káva například s ječmenem, pšenicí, nebo rýží v určitém poměru a zkoumá se do jaké míry je schopná metoda (HPLC-UV) odhalit falšování popisuje ve své práci Song et al. (2019). Jako ukazatele falšování si zvolil manózu, glukózu, galaktózu, xyulózu, arabinózu, trigonellin a kyselinu nikotinovou. Vzorek kávy (0,3 g) byl navážen do 20 ml lahvičky. Poté bylo přidáno 5 ml HCl (1,0 M) a zahřáto ve vodní lázni při 80 °C po dobu 180 minut. Po filtraci byl každý roztok protlačen předkondicionovanou kazetou (Sep Pak C18, Agilent, USA) v odměrné baňce o objemu 5 ml a doplněn na objem vodou.

Hydrolyzovaný vzorek (100 μ l) byl smíchán se 100 μ l NaOH (0,6 M). Směs (50 μ l) byla umístěna do 5 ml baňky s víčkem, následně se přidal 0,5 M methanolvý roztok (50 μ l) 1-fenyl-3-methyl-5-pyrazolu a po dobu 1 minuty byl vzorek míchán. Směs byla zahřívána při 70 °C po dobu 100 minut v termostatu. Reakční směs byla ochlazená na teplotu místnosti a neutralizována 50 μ l HCl. K roztoku směsi byla přidána voda a chloroform (vždy 1,0 ml) a směs byla důkladně promíchána. Chloroformová vrstva byla odstraněna a proces extrakce kapalina-kapalina byl prováděn trojmo. Vodní vrstva byla filtrována přes 0,45 μ m membránu pro HPLC analýzu. Monosacharidy byly kvantifikovány pomocí systému HPLC (Agilent 1200 series, Agilent Technologies, Waldbronn, Německo). Oddělení bylo dosaženo na koloně Zorbax Eclipse XDB-C18 (250 mm \times 4,6 mm, 5 μ m) při teplotě okolí (30 °C) s ÚV detekcí při 245 nm. Analýza byla prováděna v izokratickém režimu, s mobilními fázemi 0,1 M pufru fosforečnanu sodného, pH 6,7 (rozpouštědlo A) a acetonitrilu (rozpouštědlo B), v poměru 83:17, s průtokovou rychlostí 1 ml/min. Vstříkovaný objem byl 10 μ l. V závěru práce autor dochází k hypotéze, že právě glukóza by mohla být správným nástrojem, pro odhalování příměsí obilovin v mleté kávě.

3.6.7 Kakao a čokoláda

Kakao pocházející ze Střední a Jižní Ameriky patří do čeledi *Malvaceae* rodu *Theobroma*. Jedná se o klíčovou surovinu čokolády, která je základem cukrovinek. Semena kaka, známá jako kakaové boby, se sbírají z lusků. Po sklizni musí být podrobena několika krokům, aby byla vhodná pro čokoládu, včetně kvašení, pražení, vyřezávání a svíjení. Přestože existuje mnoho ukazatelů používaných k hodnocení kvality kakaových bobů, nejdůležitějším faktorem je chuťový profil. Chuť a její prekurzory závisí na krocích zpracování. Pražení kaka je nezbytné pro vytvoření typické čokoládové vůně z prekurzorových sloučenin vzniklých během kvašení, které se nechá proběhnout před samotným pražením. Chuť vyvinutá během pražení vyplývá ze 400-500 sloučenin, včetně thiazolů, fenolů, ketonů, alkoholů, pyrazinů, aldehydů, etherů, furanů a esterů. Hlavními sloučeninami vznikajícími při pražení jsou aldehydy a pyraziny. Většina z nich je tvořena Maillardovou reakcí a Strekerovou degradací aminokyselin a cukrů při vysoké teplotě. Sloučeniny jako jsou trimethylpyrazin, tetramethylpyrazin a 5-methyl-2-fenyl-2-hexanal patří mezi užitečné ukazatele pro hodnocení, zda byly boby praženy správně (Tan & Kerr 2018).

Theobroma cacao Linné, 1753 je diploidní trvalý strom s výškou od 8 do 15 m. Ačkoli není mnoho rozmanitosti, diploidy jsou často povoleny v rámci šlechtitelských programů, aby se získaly nové odrůdy. Tradičně existují dva hlavní kultivary (*Forastero* a *Criollo*) na základě aromatických znaků kakaových bobů. Byla navržena nová genetická klasifikace kakaových bobů, která zahrnuje 10 skupin: Amelonado, Contamana, Criollo, Curaray, Guiana, Iquitos, Maraňon, Nanay, Nacional a Purús. Názvy těchto skupin se určují podle zeměpisné polohy (Jižní Amerika: Fitzcarrald, Maraňon, Serra do Moa, Iquitos, Vaupés, Carauari, Purús, Monte Alergre, Gurupa a Upper) nebo podle tradičního kultivaru, který je nejvíce zastoupen (Ozturk & Young 2017).

Čerstvé kakaové boby procházející procesem fermentace a sušení v zemích původu, kde tradiční místní procesy a specifické klimatické podmínky mohou do značné míry ovlivnit konečné chemické složení a chuť kaka. Běžně se používají tři důležité druhy kaka: *Forastero*,

Criollo a *Trinitario*, kříženec *Forasterola* a *Criolla*. *Forastero* tvoří 95 % světové produkce kakaava, ale určité odrůdy (například *Criollo*, nebo *Forastero* prodávané pod názvem *Arriba*) pěstované hlavně v zemích Venezuela, Ekvádor a Mexiko, jsou známé tím, že mají nejlepší chuť a vyšší cenu. Ceny kakaových bobů obecně závisí na rozmanitosti, sezónních povětrnostních podmínkách, celosvětové rostlinné produkci, postavení zpracovatelů kakaava a čokolády na trhu a v neposlední řadě na zeměpisném původu. V důsledku svého postavení významné světové komodity existuje vysoké riziko komerčních podvodů. Posouzení původu kakaava se v posledních několika letech stalo stále důležitějším v důsledku rostoucího trhu s vysoce kvalitními výrobky z kakaava zejména s produkty mono původu (například čokolády z Ghany, Ekvádoru nebo Venezuely). Kakaové body jsou bohaté na polyfenoly – včetně katechinů, antokyanů a proantokyanidinů, odpovědných za antioxidační vlastnosti kakaava. Metody hmotnostní spektrometrie a HPLC se používají pro měření obsahu chirálních sloučenin (hydroxykyseliny, aminokyseliny a polyfenoly) ve fermentovaných a pražených kakaových bobech, s cílem rozlišení původu (Perini et al. 2016).

Forastero (*Theobroma cacao* spp. *Shaerocarpum* Linné, 1753) je produktivní a energický typ pěstovaný už v historii. V luskách se nachází malé a ploché boby s fialovými kotyledony. Zahrnuje několik subvariant, které se vyskytují v západní Africe a Jižní Americe. Skupina *Forastero* vykazuje silnou základní čokoládovou příchuť a je klasifikována jako sytká, základní nebo obyčejná kakaová jakost. Používají se k výrobě kakaové hmoty, prášku, másla a mléčné nebo hořké čokolády. *Criollo* (*Theobroma cacao* spp. *Cacao* Linné, 1753) se pěstuje ve Střední Americe a v dnešní době je velmi vzácné. Zralé lusky jsou žluté nebo červené a boby jsou velké, zaoblené, s bílými koryledony. Tato odrůda vykazuje nízkou odolnost vůči škůdcům a jeho výnosy jsou nízké. Kakao *Criollo* je vysoce aromatické a vyvíjí jemné, ořechové, zemité, květinové nebo čajové chutě. Největší producentem je Venezuela. *Trinitario* má vyšší výnosy a je méně náchylný k nemocem než ostatní. Stromy se pěstují pouze v Západní Indii, Jižní a Střední Americe. Odrůda představuje silné základní čokoládové někdy i vínové chutě. Odrůda *Nacional* se pěstuje pouze v Ekvádoru. Má velké světle fialové boby a produkuje chuť s aromatickými, květinovými a kořenitými tóny. Typy *Criollo* a *Nacional* jsou klasifikovány jako „jemná“ nebo aromatická kakaava. Používají se hlavně k výrobě tmavé čokolády a představují 5 až 10 % světového trhu (Aprotosoaie et al. 2016).

Čokoláda je populární pochoutka, konzumovaná po celém světě. Lze vyrábět různé druhy čokolády (např. tmavá, mléčná a bílá), které vykazují specifické sensorické vlastnosti. Lidé na celém světě ji spotřebují velké množství a mnohdy je spojována i s přínosy na lidské zdraví, mezi které se řadí například snížená rizika kardiovaskulárních chorob. Tato skutečnost přímo souvisí s molekulárními složkami čokoládových typů, včetně polyfenolických sloučenin, flavonoidů a alkaloidů (Bonatto & Silva 2014).

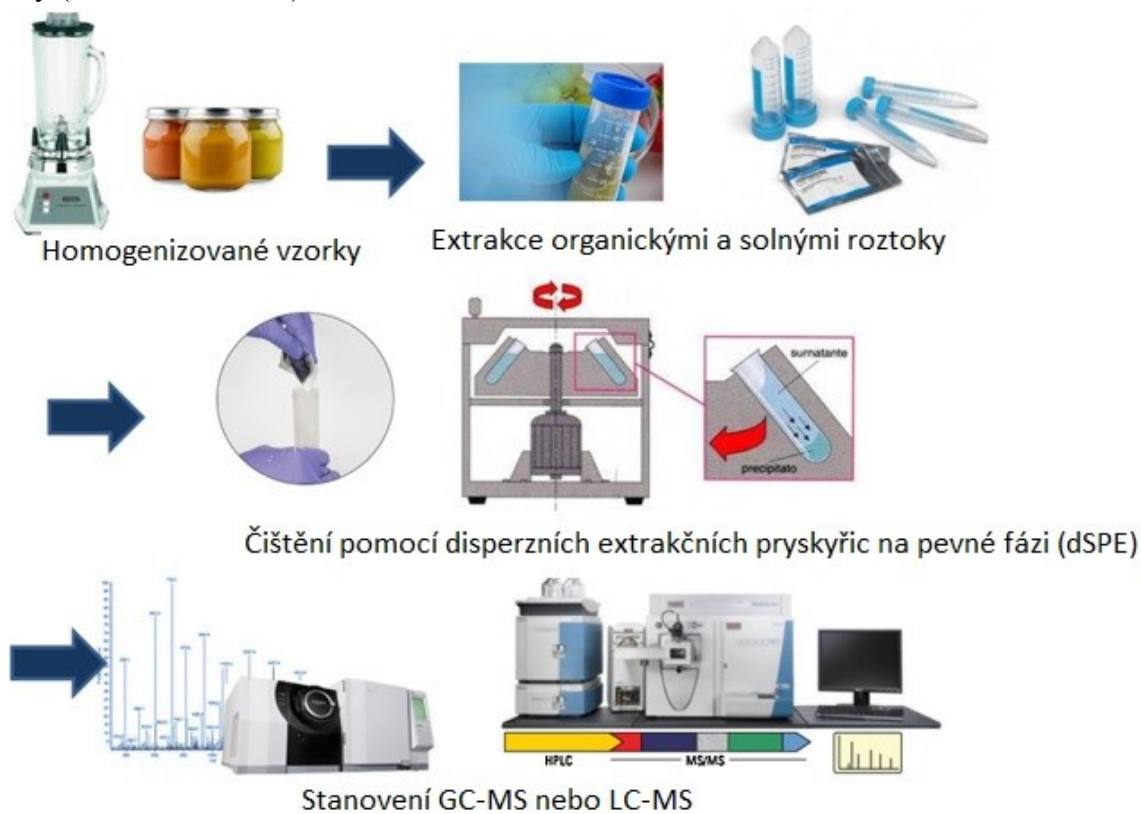
Čokoláda se konzumuje pro své příjemné, povzbuzující a euforizační účinky. Základními ingrediencemi čokolády jsou alkalizovaná kakaová hmota, prášek nebo máslo, cukry, lecitin a v případě mléčné čokolády jde o přidání mléčného prášku. Všechny tyto suroviny jsou smíchány a rafinovány. Čokolády s nízkým obsahem kakaava způsobují tání a krémový pocit v ústech, zatímco čokolády s vyšším obsahem kakaava vytvářejí suchý, lichořivý a lepivý pocit. Výrobky s velmi vysokým obsahem kakaové hmoty (více než 35 %) jsou nejbohatší na polyfenoly (Aprotosoaie et al. 2016).

Čokoláda je potravinářský produkt, který je komerčně klasifikován podle obsahu kaka, který musí výrobce uvádět na obalu. Existují tři základní druhy čokolády: hořká, mléčná a bílá (Bonatto & Silva 2014). Hořká čokoláda se vyznačuje pralinkovou, čokoládovou příchutí s malými ořechovými a karamelovými tóny, zatímco typická chuť mléčné čokolády je sladká, mléčná a medová s kokosovými tóny. Vyšší hladinu pyrazinů, pyrrolů, alkoholů (fenyletanolu) a karboxylových kyselin (kyselina 3-methylbutanová) disponuje hořká čokoláda, zatímco v mléčné čokoládě převládají laktony, estery (fenylethyleacetát), aldehydy s dlouhým řetězcem (heptanal, oktanal), ketony (2-nonanon) a sloučeniny síry (demethylsulfid, trimethylsulfid) (Aprotosoaie et al. 2016). Bílá čokoláda na rozdíl od předchozích druhů neobsahuje kakaový prášek, a proto nemá antioxidační vlastnosti. Cukrovinka je založená na kakaovém másle, mléce, lecitinu a cukru, obvykle s příchutí vanilky (Morais Ferreira et al. 2016).

Čokolády mají rozdílný obsah kakaové sušiny, mléka, cukru a kakaového másla. Posouzení obsahu složek v čokoládě je důležité pro určení kvality. Pro hodnocení obsahu kaka a tudíž správné certifikaci kategorie čokolády je vhodné využít hmotnostní spektrometrie (de Oliveira et al. 2018). Výrobci mohou dopustit falšování produktu nesprávným uvedením množství kaka. To můžeme odhalit pomocí metody MALDI-TOF MS. Postup stanovení, který uvádí Bonatto & Silva (2014) ve své práci je následující. Čokoládové tablety byly rozděleny pomocí špachtle pro následnou analýzu. Extrakce molekul byla provedena přidáním přibližně 75 mg každého vzorku do 1,5 ml polypropylenové mikrotrubičky, následovalo přidání 300 μ l destilované vody za účelem solubilizace ve vodě rozpustných sloučenin po intenzivním míchání vírem a inkubace po dobu 30 minut ve 45 °C vodní lázni. Kromě toho bylo přidáno 900 μ l ethanolu a mikrotrubičky obsahující vzorky, poté byly odstředěny po dobu 2 minut při 11 336 \times g a supernatant byl odstraněn, aby se odstranil veškerý ethanol. Následně bylo přidáno 200 μ l 70% roztoku kyseliny mravenčí a resuspendovaná peleta a 200 μ l acetonitrilu. Mikrotrubičky obsahující vzorky byly centrifugovány po dobu dalších 2 minut při 11 336 \times g. Supernatanty byly použity pro analýzu hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF. Poté byl jeden mikrolitr každého supernatantu, ve trojím provedení, byl nanesen na cílovou destičku MSP 96 MALDI (Bruker Daltonics, Bremen, Německo) a sušen při teplotě místnosti po nanesení 1 μ l nasyceného matricového roztoku kyseliny a-kyano-4-hydroxykyselinové. Krystalizované vzorky byly analyzovány na komerčním MALDI-TOF MicroFlex (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA) za použití externího kalibračního režimu v rozmezí reflektorů m/z 100–1000. Spektra byla získána automaticky pomocí standardního postupu (10 000 laserových výstřelů). A dochází k závěru, že metoda je vhodná a rychlá pro monitorování složek čokolády (Bonatto & Silva 2014).

Použití nepražených kakaových bobů k výrobě čokolády (s celkovým obsahem polyfenolů okolo 6-8 % hmotnosti sušených fermentovaných bobů) povede k nepříjemné hořkosti. Převládající polyfenolické sloučeniny v nepražených kakaových bobech jsou flavonoly, které se během pražení výrazně snižují, protože jsou tepelně labilní. Postup pražení může také výrazně snížit obsah vlhkosti v kakaových bobech, což pomáhá zabránit změnám během skladování čokolády. Stanovení vhodného rozsahu kvašení nebo pražení se obvykle provádí smyslovými testy nebo empirickými metodami prováděnými vyškoleným personálem. Počáteční třídění stanoví procento zdravých a vadných bobů. Stanovení vhodného koncového bodu pro pražení je komplikované, protože vývoj aromatických sloučenin závisí na rozmanitosti, druhu pražení, čase a použité teplotě. Ve výzkumném prostředí byl rozsah

pražení kakaových bobů stanoven plynovou chromatografií (GC/MS). Ovládání nástrojů pro GC/MS je však obecně nákladné, takže je mimo dosah mnoha malých a středních výrobců čokolády (Tan & Kerr 2018).



Obrázek 4 – grafické schéma naznačení postupu stanovení pomocí GC/MS (Gallo & Ferranti 2016)

Přesto by bylo dobré naznačit postup stanovení, který uvádí Tan (2018) ve své práci. Testované fazole, které mají různý stupeň pražení, byly předehřáté na 70 °C v termostatu po dobu 5 minut a pak rychle vloženy do vzduchotěsné 60 ml stříkačky vybavené mechanismem Luer-Lock. Fazole byly drženy po dobu 30 s, aby těkavé sloučeniny vyplnily prostor stříkačky. Injekční pumpa (Model 200 Series, KD Scientific Inc., Holliston, MA, USA) pak vstříkovala plyn do komory pro injekce (konstantní teplota 27,5 °C) při 3 ml/s po dobu 10 s. Vstříkovaný plyn reagoval s plynovými senzory a signály (výstupní napětí jako funkce času) byly shromažďovány dvěma deskami pro sběr dat. GC/MS systém používaný k analýze těkavých sloučenin vzorků kakaových bobů sestával z plynového chromatografu Clarus 680 (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) a hmotnostního spektrometru Clarus SQ8T (PerkinElmer). Pražené kakaové boby byly rozemleté a 2 g byly naváženy do uzavřené skleněné lahvičky. Na kakaový likér byl aplikován vnitřní standard 4-pikolininu. Pro extrakci těkavých sloučenin bylo použito vlákno z polydimethylsiloxan-divinylbenzenu (PDMS-DVB), mikroextrakcí na pevné fázi (SPME). Vlákno bylo vloženo pryžovým septem a vystaveno obsahu lahvičky po dobu 30 min, zatímco lahvička byla udržována při konstantní 60 °C. Vlákno bylo přeneseno do vstřikovacího portu GC vybaveného nerozdělitelným vstřikovačem. Teplota injektoru byla udržována na 250 °C a kolona naprogramována od 40 °C (5 min) do 200 °C při 5 °C/min po dobu 5 min. Autor také dochází k závěru, že metoda GC/MS by mohla předpovídat fáze pražení kakaových bobů, pokud by ji ovládal vyškolený personál. Je založená na sledování

těkavých látek, které se v průběhu pražení mění a mohou být indikátorem kvality výsledného produktu.

Dominantní složkou kakaových bobů je kakaové máslo. Je to přírodní a vysoce cenný tuk díky svým specifickým texturním vlastnostem a bioaktivním látkám, jako jsou tokoferoly a fytoosteroly, které působí jako jejich nosič. Přítomnost těchto látek jim zvyšuje nutriční hodnotu. Tokoferoly jsou silné antioxidanty chránící organismy před negativním dopadem volných radikálů a jiných reaktivních forem kyslíku. Tyto sloučeniny inhibují oxidaci mastných kyselin, čímž zvyšují stabilitu zásobních lipidů a rozhodují o výživných hodnotách zpracovaných produktů. Rostlinné steroly jsou důležitou skupinou sloučenin, které pozitivně ovlivňují lidské zdraví. Strava bohatá na fytoosteroly a jejich hydrogenované deriváty (fytostanoly), které snižují hladinu LDL cholesterolu v krevním séru. Pomáhají při prevenci proti hypercholesterolemii a kardiovaskulárním chorobám. Zmíněné sloučeniny zlepšují funkci močového systému a odstraňují příznaky zvětšení prostaty. Rostlinné steroly odhalují ochranný účinek na oxidaci lipidů díky synergickým interakcím s tokoferoly, také během jejich tepelného zpracování (Oracz et al. 2014).

Výkyvy v nabídce a poptávce, kolísání cen kakaových bobů a nízká kvalita jednotlivých sklizní vedly k vývoji tzv. alternativ kakaového másla. Mohou být použity pro částečnou nebo dokonce úplnou náhradu kakaového másla v cukrovinkách a čokoládě, aniž by to ovlivnilo funkčnost tukové fáze. Oproti kvalitním kakaovým másům jsou jeho alternativy značně ekonomicky výhodnější. Frakce palmového či bambuckého oleje tvoří základ alternativ. Čokoláda je definována jako produkt získaný z kakaových hrotů, kakaové hmoty, kakaového prášku a sacharózy s možností přidáním kakaového másla. Několik členských států EU (Rakousko, Dánsko, Irsko, Portugalsko, Švédsko a Spojené království Velké Británie a Severního Irska) povoluje použití jiných rostlinných tuků, než je kakaové máslo maximálně do 5 % celkové hmotnosti produktu. Pokud je vše správně uvedeno na etiketě nejedná se o falšování, v opačném případě jde o falšovanou potravinu. Odhalit ji lze pomocí GC a HPLC (Ulberth & Buchgraber 2003).

Náhrady kakaového másla, které se normálně používají, mají podobné chemické a fyzikální vlastnosti, nebo vykazují specifické funkční vlastnosti. Mohou být získávány z rostlin, nebo být vyrobeny chemickou nebo enzymatickou frakcionací z rostlinných tuků. Svým složením jsou velmi podobné kakaovým tukům, a to ztěžuje detekci. Simoneau (1999) ve své práci využívá vysokotlakou GC jako analytickou metodu pro analýzu triglyceridových profilů, na odhalení falšování. Nejprve si připravil směs kakaového másla a rostlinného tuku ve známém poměru. Pro zjednodušení stanovení vždy používal pouze jeden cizí tuk a rozsah falšování zvolil 5-20%. Analýzy byly provedeny na plynovém chromatografu Hewlett Packard HP 6890 vybaveném injektorem na koloně a detektorem ionizace plamene. Použitá kolona byla 5% polymethylfenylsiloxan DB17HT (o délce 30 m, vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmu 0,15 μm). Vstříkovač byl naprogramován tak, aby teplota stoupala ze 100 °C na 365 °C při 70 °C/min. Kolona byla naprogramována tak, aby stoupala teplota ze 100 °C (udržované 0,2 min) na 115 °C při 95 °C/min, poté z 115 °C na 175 °C při 65 °C/min, následně ze 175 °C na 300 °C při 45 °C/min a nakonec od 300 °C do 365 °C při 35 °C/min. Teplota byla udržována na 365 °C po dobu 20 minut. Helium byl použitý jako nosný plyn. Následně dochází autor k závěru triglyceridy jsou nejhojnějšími složkami kakaového másla. To je také charakterizováno mastnými kyselinami, jako je kyselina palmitová, stearová, olejová a také

kyselina linolová. Ty se nacházejí v určitém poměru. Pokud se ale poměr změní naznačuje to falšování (Simoneau et al. 1999).

3.7 Alkoholické nápoje

Alkoholické nápoje jsou komplexní směsí skládající se převážně z ethanolu, vody a velkého počtu vedlejších sloučenin, které obsahují těkavé sloučeniny odpovědné za chuť a vůni. Existují dva základní druhy alkoholických nápojů: fermentované a destilované. Destilované alkoholické nápoje se vyznačují přítomností těkavých sloučenin (estery, mastné kyseliny a podobně), které vznikají při kvašení, destilaci a skladování. Výroba destilovaných alkoholických nápojů jako je whisky, se stala pozoruhodnou součástí současného potravinářského průmyslu. Pro dosažení bezpečnosti potravin v pěstitelské oblasti destilovaných alkoholických nápojů získává identifikaci těkavých sloučenin velký význam, což naznačuje specifikaci nelegálních lihovin a abnormalit v důsledku nesprávné výroby (Boyaci et al. 2012).

Alkoholické nápoje jsou takové, které obsahují přes 0,75 objemových procent ethanolu. Jejich použití způsobuje opilst: v menších dávkách (v závislosti na metabolismu jednice) uvolnění a euforické stavy, nebo pocity napětí. Ve větších dávkách způsobuje útlum, nevolnost až otravu. Acetaldehyd (ethanal) je metabolit ethanolu, který se vyskytuje v lidském těle po konzumaci alkoholických nápojů. Je to také známá genotoxická a karcinogenní látka. Jeho následná oxidace vede ke vzniku kyseliny octové a acetylkoenzymu A, který vstupuje do Krebsova cyklu za vzniku oxidu uhličitého a vody (Lachenmeier et al. 2009).

Každý alkohol má charakteristický aromatický profil, který ovlivňuje procesy kvašení, destilace a skladování, jakož i výběr vhodných surovin (Wiśniewska et al. 2015). Jedním z nejdůležitějších rizik pro spotřebitele alkoholických nápojů z neznámého zdroje je propracované smíchání nápojů s methanolem. Příjem methanolu způsobuje intoxikaci v důsledku nahromadění vysoce toxických metabolitů, jako je kyselina mravenčí a její sůl (formaldehyd). Akutní intoxikace sloučeniny obvykle způsobuje bolest hlavy, závratě, únavu, nevolnost, zvracení, rozmazané vidění, slepotu a dokonce smrt. Orální smrtelná dávka methanolu je od 300 do 1000 mg/kg tělesné hmotnosti. Kromě toho existují produkty, který obsahují malý podíl methanolu přirozeně. Jde například o víno, kde se pomocí pektolytických enzymů při fermentaci zvyšuje jeho hladina. Pro ochranu spotřebitele je nezbytné rychlé a přesné stanovení množství methanolu v alkoholických nápojích. Metody stanovení mají určité potíže s přesností. Například že ve většině případů nelze stanovit methanol a ethanol zároveň. Vhodná metoda pro stanovení methanolu je použití enzymatické metody (například vysoce účinnou kapalinovou chromatografií – HPLC). Pro stanovení jenom ethanolu lze aplikovat metodu GC. Ale existuje metoda (Ramanova spektroskopie), která dokáže stanovit obě látky zároveň (Boyaci et al. 2012).

Obě metody stanovení ve své práci zkoumá Boyaci et al. (2012) a následně je porovnává. Vzorky, pro metodu GC, byly analyzovány v plynovém chromatografu s plamenoionizačním detektorem (Agilent 6890 Series GC systém G1530 A, Santa Clara, CA). Byl použitý CPWAX 57CB (Chrompack, Nizozemsko) s vnitřním průměrem 0,32 mm, tloušťkou filmu 0,2 μm (stabilizovaný polyethylenglykol). Průtok dusíku (nosného plynu) byl nastaven na 2 ml/min. Teploty v portu injektoru a detektoru byly nastaveny na 250 °C a používala se nerozdělená

injekce (asi 1 μ l pro každou injekci). Aby se zabránilo křížové kontaminaci mezi vzorky, byla injekční stříkačka pro injekci úplně vysušena teplem po dobu několika sekund po propláchnutí stříkačky destilovanou vodou. Teplota pece byla během analýzy řízena teplotním programem, který se zvýšil na 180 °C a doba chodu byla 10 minut. Poté byla provedena druhá metoda. Ramanova spektra různých směsí ethanolu a methanolu byla získána a normalizována pomocí Ramanovy rozptylové intenzity acetonitrilu. Výsledky, které uvádí autor, byly získány Ramanovou spektroskopií, byly porovnány s výsledky konvenční GC metody. Ve srovnání s výsledky GC má Ramanova spektroskopie lepší výkon při analýze alkoholických nápojů. Vyvinutá metoda, která se používá pro detekci ethanolu a methanolu, vykazovaly lineární odezvy v rozmezí 0–7 M s detekčním limitem 1,2 mM pro ethanol a 0–10 M s detekčním limitem 3,4 mM pro methanol. Autor také dochází k závěru, že právě Ramanova spektroskopie, je výhodná z důvodu vysoké citlivosti a rychlosti. Minimalizuje se laboratorní vybavení a časová náročnost, ale také se eliminuje potřeba chromatografické separace a chyb při měření.

3.7.1 Whisky

V závislosti na regionu je whisky definována odlišně. Podle definice jde o lihovinu vyráběnou destilací z rmutu ze sladových zrn, a poté by měla zrán nejméně 3 roky v dřevěných sudech. Konečný destilát si zachovává svou barvu, vůni a chuť odvozenou z výrobního procesu. K destilátu lze přidat pouze vodu a holý karamel (pro barvení), nelze přidat žádná další barviva a aromatické látky. Přesto existují další rozdíly mezi whisky. Skotská se vyrábí výhradně ze skladového ječmene pomocí dvojité destilace. Těkavé fenolické sloučeniny, jako je kresol a guajakol, které se tvoří v praženém ječmenu, jsou odpovědné za specifickou chuť. Whisky pocházející ze severní části USA se vyrábí ze směsi kukuřice, žita, pšenice, ječmene a jiných zrn a zraje v dubových sudech po dobu nejméně 2 roky (Wiśniewska et al. 2015).

Většina amerických whisky (pod označením „bourbon“ a „žitná whiskey“) se od ostatních neliší pouze zemí původu, ale i přísadami a zpracováním. Vyznačují se charakterem zuhelnatělého dubu a zrnitým základem. „Bourbon“, který se destiluje z kaše nejméně 51 % kukuřice, naproti tomu „žitná whiskey“ se destiluje z kaše nejméně 51 % žitného zrna. Dalším typem je whisky „Tennessee“, která musí být destilována pouze ve státě Tennessee a obvykle je filtrována přes dřevěné uhlí a poté leží v sudech a má podobu bourbonu (Lahne et al. 2019).

Na přesné složení whisky lze použít plynovou chromatografii (GC). To umožní najít charakteristické sloučeniny a definovat aromatické profily, které pak mohou být použity pro definování kvality a autentičnosti testované whisky (Wiśniewska et al. 2015). Ta ve své práci shrnuje postup stanovení aromatické sloučeniny, které dávají každé whisky specifické znaky. Nutno podotknout, že Wiśniewska et al. (2015) popisuje všechny stanovení, které lze u whisky analyzovat (ať už jde o stanovení zeměpisného původu, methanolu, či těkavé sloučeniny pro identifikaci). Pro stanovení, o jakou whisky se jedná, použila postup, kdy vzorky byly analyzovány pomocí plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií (GC/MS). Vzorky byly připraveny mikroextrakcí na pevné fázi (SPME), která je založená na sorpci malého množství vzorku na tenkou válcovou vrstvu stacionární fáze potahující skleněné nebo křemenné vlákno. Vlákno se umísťuje do nerezové zkumavky umístěné v injekční jehle. Takové uspořádání umožňuje výměnu hmoty během obohacování

a uvolňování adsorbovaných sloučenin a zabraňuje ucpávání. Extrakci lze provést ponořením vlákna přímo do kapaliny, nebo umístěním do prostoru nad kapalným nebo pevným vzorkem. Díky stanovení se přišlo na 11 sloučenin, které by mohli být použity pro analýzu charakteristických látek.

3.7.2 Pivo

Pivo je široce konzumovaný alkoholický nápoj. Vyrábí se fermentací cukrů za vzniku alkoholů a dalších sloučenin, které jsou zodpovědné za jeho příjemnou chuť. Jedná se o komplexní látky bohaté na peptidy, aminokyseliny, vitamíny (především skupiny B), estery, polyfenoly a ethanol. Fermentované cukry, jako jsou monosacharidy a oligosacharidy, přímo přispívají ke sladkosti piva, zatímco sacharidy s více než čtyřmi glykosylovými jednotkami mohou být pro vnímání piva prospěšné, hlavně vnímáním plnosti piva v ústech. K tradiční výrobě piva stačí základní čtyři suroviny (voda, ječný slad, chmel a pivovarské kvasnice). Proces vaření piva zahrnuje kroky: vystírání, rmutování a zcezdování, kterými získáme sladinu. Povařením sladiny s chmelem dosáhneme typické hořkosti a vůně. Z toho vychází dílo, kterému se říká mladina, a to se nechá fermentovat kvasinkami. Poté takzvané mladé pivo leží v ležáckých tancích a zvyšuje se obsah oxidu uhličitého pro odpovídající říz piva (Li 2020).

Prvkem kvality, kterým spotřebitel rozpoznává, je vizuální vzhled piva: jasný, čirý, šumivý nápoj se stabilní pěnou. Druhým, ale nejdůležitějším dojmem piva, je chuť. V důsledku vysokých vývozů a delší době přepravy a skladování se stala důležitá stabilita chuti, barvy a čirosti piva. Fenolové látky hrají klíčovou roli v kvalitě piva, protože ovlivňují všechny výše uvedené parametry kvality piva, zejména při tvorbě zákalu. Fenolové sloučeniny odvozené od chmele a skladu představují rozmanitou a komplexní třídu zahrnující jednoduché fenoly a fenolové kyseliny a také kondenzované a hydrolyzovatelné taniny (Wannenmacher et al. 2018).

Trh s pivními druhy je velmi rozmanitý, aby pokryl co největší touhy či přání zákazníků. Lze to uvést na příkladu segmentace trhu podle pohlaví. Muži tradičně konzumovali více piva při častějších příležitostech. Ženy konzumaci piva častěji měnily za jiné druhy alkoholických nápojů, ať už jde například o víno nebo míchané nápoje. V dnešní době muži stále převyšují spotřebu nad ženami, i když rozdíl už není tak patrný. Preferují hlavně speciální piva, která obsahují více alkoholu, jsou více hořké až tak zvané drsné. Vychutnávají si širší škálu pivních chutí a jejich preference závisí na zkušenostech a známosti piva. Ženy vyhledávají piva jemnější, méně alkoholická s nižší hořkostí. V jejich výběru jsou zastoupeny i piva s ovocnými tóny, či tak zvané Radlery, u kterých jde o smíchání piva s ovocnou šťávou (Donadini et al. 2020).

Během vaření mohou být použity různé postupy, které vedou k odlišným pivům, a to jak na úrovni organoleptické, tak i molekulární. Pivům bylo přisouzeno několik prospěšných vlastností, protože jsou zdrojem vitamínů třídy B a polyfenolů. Použité suroviny a pivovarské techniky jsou rozhodující pro množství těchto sloučenin a jejich podíl na konečném produktu. Nedávno byla jako výkonná technika charakterizace piva a jejich surovin navržena hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRSM). Ta umožňuje získat lepší detekční limity, a proto je vhodnou technikou pro identifikaci méně hojných sloučenin. Metoda ultra-vysoce účinná

kapalinová chromatografie hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (UHPLC-HRMS) je vhodná pro srovnání piva vyrobeného pomocí dvou různých pivovarských postupů. Jako třídy Pilsner (druh ležákového piva) a belgického piva (Gallart-Ayala et al. 2016).

Speciální piva, jako je Rochefort a Trappist, mají jedinečné vlastnosti včetně chuti. Pro získání otisků prstů (profily pro GC) těkavých látek z piva byly vyvinuty postupy odběru vzorků na bázi HS-SPME spojené s GC časovou letovou hmotnostní spektroskopií, pomocí který se ověří pivní produkty (Hong et al. 2017). Gallart-Ayala et al. (2016) používá ve své práci metody UHPLC-HRMS právě pro odlišení typů piva. Nejprve byla provedená předúprava vzorků, kdy před injekcí byla piva naředěna dvakrát deionizovanou vodou (v poměru 1:1) a filtrována přes 0,22 μm teflonovou membránu. Poté byl použitý ultra-vysoce účinný kapalinový chromatograf (Accela; Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA). Chromatografická separace byla provedena ve sloupci Hypersil Gold a Q (100 \times 2,1 mm, velikost částic 1,9 μm) s použitím gradientové eluce acetonitrilu (rozpouštědlo A) a 0,1% kyselina mravenčí ve vodě (rozpouštědlo B). Průtok byl 600 $\mu\text{l}/\text{min}$ a teplota kolony a zásobníku na vzorky byly udržovány na 25 a 4 $^{\circ}\text{C}$. Systém Accela UHPLC byl spojen s přístrojem LTQ-Orbitrap Velos Instrument (Thermo Fisher Scientific, Brémy, Německo) vybaveným vyhřívanou elektrosprejovou ionizační sondou (HESI-II). Jako ochranný plyn byl použit dusík. Teplota zkumavky s iontovým přenosem byla nastavena na 375 $^{\circ}\text{C}$ a napětí elektrospreje na -3,5 kV v negativním režimu a +3,5 kV v pozitivním režimu. Byly provedeny dva nezávislé chromatografické běhy pro pozitivní a negativní režimy pracující v plně skenovací MS (m/z) 50–1000 současně s fragmentací disociace (CID) indukované kolizí při 60 eV. Autor se nezaměřoval na charakterizaci tříd piv, ale spíše na aplikaci necílených postupů pro získání specifických sloučenin, podle kterých by se mohla piva rozeznávat. Dochází k závěru, že metodu je vhodné používat na už hotový výrobek (například pro výrobce v pivovarech, či na odhalování falšování, pokud už je výrobek v prodejní síti).

Hmotnostní spektroskopií lze odhalit i stárnutí piva. Chuť piva zahrnuje mnoho aspektů, jako je profil, konzistence a stabilita. Pivovary chtějí svým spotřebitelům nabídnout chuťový zážitek, který považují za příjemný. Chuť piva je nestabilní hlavně během skladování, což se označuje jako stárnutí. Na rozdíl od jiných alkoholických nápojů jako je víno, whisky, brandy, je stárnutí z hlediska kvality chuti považováno za nepříjemné. Existují dva důležité důvody negativních účinků. Jedním z nich je, že ve většině případů zastaralá příchut', která se objevuje při dlouhodobém skladování, vede k nepříjemným chutím a vážně zhoršuje kvalitu piva a druhým je zatuchlá příchut' piva, která způsobuje, že stárnoucí příchutě nejsou vždy považovány za nežádoucí, ale spotřebitelům nechutnají. Hlavní sloučenina, která vytváří stárnutí je 2-thiobarbiturová kyselina, která reaguje s aldehydy. Ale existují i další, jako například 3-methyl-butanal, 2-methyl-butanal, benzaldehyd a podobně, které lze odhalit pomocí metody GC/MS (Li et al. 2015).

Této metodě se věnuje i Herrmann (2010) ve své práci. Měření jednotlivých látek bylo prováděno za použití zvoleného způsobu monitorování iontů se současným měřením celého hmotového spektra. Používaným přístrojem (GC) byl Thermo Trace GC Ultra DSQ. Jako sloupec byl použit Varian VF-5ms (vnitřní průměr 0,25 mm, délka 60 m). Separace horkých trubek byla identická pro všechny aplikované systémy ve vodní lázni (15 min). Parametry stanovení: počáteční teplota 40 $^{\circ}\text{C}$ udržována po dobu 4 minut, konečná teplota 220 $^{\circ}\text{C}$ udržována po dobu 30 minut, 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, průtok 1,2 ml/min. Jako nosný plyn byl použitý helium

(2 μ l). Hodnoty ukazatelů stárnutí a aromatických složek nebyly vypočteny při celkovém odpařování, protože koncentrace těchto látek v mladině a pivu se musí porovnávat za praktických podmínek. Autor také dochází k závěru, že v moderních varných systémech jsou patrné rozdíly, pokud jde o vývoj ukazatelů stárnutí. Systémy s nízkou účinností odpařování vedou k pivu s vyšším celkovým počtem indikátorů stárnutí. Systémy s nízkými teplotními indikátory vykazují zvýšené hodnoty týkající se produktů degradace mastných kyselin, které jsou známé také jako indikátory odpařování (Herrmann et al. 2010).

4 Závěr

V této práci byly shrnuty nejnovější vědecké poznatky a studie zabývající se falšováním potravin a jeho odhalováním pomocí hmotnostní spektrometrie. Konkrétně se jednalo o metody MALDI-TOF, ESI, které využívaly více různých detektorů a analyzátorů. Využívaly se i metody chromatografického charakteru (LC, GC, či HPLC) avšak pro ně byl nutný vhodný detektor, který je součástí hmotnostního spektrometru. Práce nastínila problematiku falšování komodit jak živočišného, tak i rostlinného původu.

Pro každou zmíněnou komoditu byl stručně popsán laboratorní postup. Pokud konkrétní model falšování bylo možné odhalit různými metodami, bylo součástí popisu i komparace daných metod. Avšak ve většině případů byla použita jen jedna metoda. V některých situacích bylo doporučeno využít i jiné separační metody či software (z důvodu nízkého rozlišení), anebo bylo navrženo propojení s jiným postupem z oboru analytické chemie (např. Ramanova spektroskopie, ELISA). Nabízela by se zde tedy příležitost řady experimentů, s motivem zlepšení citlivosti metod pro odhalování falzifikací. Například extra panenský olej byl doposud podroben experimentu odhalujícím obsah 5 % přidaného rafinovaného oleje.

Falšování potravin bohužel můžeme v dnešní konzumní společnosti vnímat jako celosvětový problém. Dochází k němu například z důvodu snahy o snížení ceny výsledného produktu pomocí náhrady dražší vstupní suroviny za levnější, avšak bez ohledu na zdraví konzumenta, či s cílem zvýšení zisků z výroby formou snížení vstupních prostředků. Praktiky falšování v dnešní době již nejsou pouze o přidávku vody za účelem zvětšení objemu výsledné komodity. Vyskytly se například i pokusy o přidání čistých chemických látek pro zvětšení podílu bílkovin. Z důvodu výskytu stále nových praktik falšování potravin, je nezbytné současně vyvíjet i nové technologie za účelem jejich odhalování. Například při falšování mléka syrovátkou do obsahu 10 % nebylo možné podvod odhalit v běžné mlékárenské laboratoři během základního rozboru mléka při příjmu, čímž se snaha o zamezení této falzifikaci značně zkomplikovala.

V případě odhalení falšování konkrétní komodity je důležité co nejdříve informovat širokou veřejnost a bezprostředně stáhnout daný výrobek z prodeje. Na kontrole falzifikace se podílejí kompetentní orgány státní správy, konkrétně se v České republice jedná o Českou obchodní inspekci či Státní zemědělskou a potravinářskou inspekci. Docílení naprostého zamezení falšování potravin není příliš pravděpodobné. A proto je poměrně podstatné, aby k odhalování padělků docházelo již v samotném počátku výroby a předešlo se tak značným nepříjemnostem, či dokonce případům ohrožení lidského zdraví. Nepochybně konzumace kvalitních a bezpečných potravin koreluje s lidským zdravím, a proto by v zájmu každého konzumenta neměla být jakákoliv snaha o její omezení přehlížena.

5 Literatura

- Ahmed I et al. 2018. An overview of smart packaging technologies for monitoring safety and quality of meat and meat products. *Packaging Technology and Science* **31**:449–471.
- Alves J de O, Neto WB, Mitsutake H, Alves PSP, Augusti R. 2010. Extra virgin (EV) and ordinary (ON) olive oils: Distinction and detection of adulteration (EV with ON) as determined by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry and chemometric approaches. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **24**:1875–1880.
- Amrutha Kala AL. 2013. Detection of possible adulteration in commercial ghee samples using low-resolution gas chromatography triglyceride profiles. *International Journal of Dairy Technology* **66**:346–351.
- Aprotosoia AC, Luca SV, Miron A. 2016. Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products- An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **15**:73–91.
- Arena S, Salzano AM, Scaloni A. 2016. Identification of protein markers for the occurrence of defrosted material in milk through a MALDI-TOF-MS profiling approach. *Journal of Proteomics* **147**:56–65. Elsevier B.V. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2016.02.016>.
- Basanisi MG, La Bella G, Nobili G, Coppola R, Damato AM, Cafiero MA, La Salandra G. 2019. Application of the novel Droplet digital PCR technology for identification of meat species. *International Journal of Food Science & Technology*:1–6.
- Becker MSR. 2019. German Government Official Methods Board Points the Way Forward: Launch of a New Working Group for Mass Spectrometry for Protein Analysis to Detect Food Fraud and Food Allergens:1280–1286.
- Bonatto CC, Silva LP. 2014. Cocoa content influences chocolate molecular profile investigated by MALDI-TOF mass spectrometry:3–6.
- Bonvehi JS, Coll FV. 2009. Detecting vegetable oil adulteration in hazelnut paste (*Corylus avellana* L.). *International Journal of Food Science and Technology* **44**:456–466.
- Boyaci IH, Genis HE, Guven B, Tamer U, Alper N. 2012. A novel method for quantification of ethanol and methanol in distilled alcoholic beverages using Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* In this study, direct quantification of ethanol and methanol in distilled alcoholic beverages using Raman spectroscopy was performed. Raman spectra of varying ethanol-m **43**:1171–1176.
- Canja CM, Rel AMĂZĂ, Enache D V. 2016. FOODSTUFF FALSIFICATION – A NOWADAYS PROBLEM **9**.
- Cheng Y, Dong Y, Wu J, Yang X, Bai H, Zheng H, Ren D, Zou Y, Li M. 2010. Screening melamine adulterant in milk powder with laser Raman spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis* **23**:199–202. Elsevier Inc. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.006>.
- Choi DM, Park S, Yoon TH, Jeong HK, Pyo JS, Park J, Kim D, Kwon SW. 2008. Determination of analogs of sildenafil and vardenafil in foods by column liquid chromatography with a photodiode array detector, mass spectrometry, and nuclear magnetic resonance spectrometry. *Journal of AOAC International* **91**:580–588.
- Cozzolino R, De Giulio B. 2011. Application of ESI and MALDI-TOF MS for triacylglycerols analysis in edible oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* **113**:160–167.
- Da Silva PM, Gauche C, Gonzaga LV, Costa ACO, Fett R. 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry* **196**:309–323. Elsevier Ltd. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>.
- Daniel D, Lopes FS, Santos VB dos, do Lago CL. 2018. Detection of coffee adulteration with soybean and corn by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry* **243**:305–310. Elsevier. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.140>.

- de Oliveira DN, Camargo ACB, Melo CFOR, Catharino RR. 2018. A fast semi-quantitative screening for cocoa content in chocolates using MALDI-MSI. *Food Research International* **103**:8–11. Elsevier. Dostupné z <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.035>.
- Dhifi W, Angerosa F, Serraiocco A, Oumar I, Hamrouni I, Marzouk B. 2005. Virgin olive oil aroma: Characterization of some Tunisian cultivars. *Food Chemistry* **93**:697–701.
- Di Girolamo F, Masotti A, Salvatori G, Scapaticci M, Muraca M, Putignani L. 2014. A sensitive and effective proteomic approach to identify she-donkey's and goat's milk adulterations by MALDI-TOF MS fingerprinting. *International Journal of Molecular Sciences* **15**:13697–13719.
- Dixit A, Jin MH, Chung JW, Yu JW, Chung HK, Ma KH, Park YJ, Cho EG. 2005. Development of polymorphic microsatellite markers in sesame (*Sesamum indicum* L.). *Molecular Ecology Notes* **5**:736–738.
- Donadini G, Bertuzzi T, Kordialik-Bogacka E, Cywińska D, Rossi F, Spigno G, Porretta S. 2020. Investigating patterns of millennials' interest in gluten-free beer in Poland: A question of beer price and alcohol content. *Journal of Food Science* **85**:182–191.
- Ellis DI, Brewster VL, Dunn WB, Allwood JW, Golovanov AP, Goodacre R. 2012. Fingerprinting food: Current technologies for the detection of food adulteration and contamination. *Chemical Society Reviews* **41**:5706–5727.
- ElMasry G, Morsy N, Al-Rejaie S, Ayed C, Linforth R, Fisk I. 2019. Real-time quality authentication of honey using atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry (APCI-MS). *International Journal of Food Science and Technology* **54**:2983–2997.
- Fadzillah NA, Rohman A, Salleh RA, Amin I, Shuhaimi M, Farahwahida MY, Rashidi O, Aizat JM, Khatib A. 2017. Authentication of butter from lard adulteration using high-resolution of nuclear magnetic resonance spectroscopy and high-performance liquid chromatography. *International Journal of Food Properties* **20**:2147–2156.
- Flaudrops C, Armstrong N, Raoult D, Chabrière E. 2015. Determination of the animal origin of meat and gelatin by MALDI-TOF-MS. *Journal of Food Composition and Analysis* **41**:104–112.
- Gallart-Ayala H, Kamleh MA, Hernández-Cassou S, Saurina J, Checa A. 2016. Ultra-high-performance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry based metabolomics as a strategy for beer characterization. *Journal of the Institute of Brewing* **122**:430–436.
- Gallo M, Ferranti P. 2016. The evolution of analytical chemistry methods in foodomics. *Journal of Chromatography A* **1428**:3–15. Elsevier B.V. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.09.007>.
- Garcia JS, Sanvido GB, Saraiva SA, Zacca JJ, Cosso RG, Eberlin MN. 2012. Bovine milk powder adulteration with vegetable oils or fats revealed by MALDI-QTOF MS. *Food Chemistry* **131**:722–726. Elsevier Ltd. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.062>.
- Handberg E, Chingin K, Wang N, Dai X, Chen H. 2015. MASS SPECTROMETRY IMAGING FOR VISUALIZING ORGANIC ANALYTES IN FOOD:641–658.
- Hong E, Lee SY, Jeong JY, Park JM, Kim BH, Kwon K, Chun HS. 2017. Modern analytical methods for the detection of food fraud and adulteration by food category. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **97**:3877–3896.
- Iammarino M, Marino R, Albenzio M. 2017. How meaty? Detection and quantification of adulterants, foreign proteins and food additives in meat products. *International Journal of Food Science and Technology* **52**:851–863.
- Kim JM, Kim HJ, Park JM. 2015. Determination of Milk Fat Adulteration with Vegetable Oils and Animal Fats by Gas Chromatographic Analysis. *Journal of Food Science* **80**:1945–1951.

- Koster CG De, Brul S. 2016. ScienceDirect MALDI-TOF MS identification and tracking of food spoilers and food-borne pathogens. *Current Opinion in Food Science* **10**:76–84. Elsevier Ltd. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2016.11.004>.
- Lachenmeier DW, Kanteres F, Rehm J. 2009. Carcinogenicity of acetaldehyde in alcoholic beverages: Risk assessment outside ethanol metabolism. *Addiction* **104**:533–550.
- Lahne J, Abdi H, Collins T, Heymann H. 2019. Bourbon and Rye Whiskeys Are Legally Distinct but Are Not Discriminated by Sensory Descriptive Analysis. *Journal of Food Science* **84**:629–639.
- Li H, Liu F, He X, Cui Y, Hao J. 2015. A study on kinetics of beer ageing and development of methods for predicting the time to detection of flavour changes in beer. *Journal of the Institute of Brewing* **121**:38–43.
- Li M. 2020. Pro fi ling of carbohydrates in commercial beers and their in fl uence on beer quality.
- Lin M, He L, Awika J, Yang L, Ledoux DR, Li H, Mustapha A. 2008. Detection of melamine in gluten, chicken feed, and processed foods using surface enhanced Raman spectroscopy and HPLC. *Journal of Food Science* **73**.
- Majcher MA, Kaczmarek A, Klensporf-Pawlik D, Pikul J, Jeleń HH. 2015. SPME-MS-Based Electronic Nose as a Tool for Determination of Authenticity of PDO Cheese, Oscypek. *Food Analytical Methods* **8**:2211–2217.
- Mcgorrin RJ. 2009. One Hundred Years of Progress in Food Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:8076–8088.
- Michalak M, Plitta BP, Chmielarz P. 2013. Desiccation sensitivity and successful cryopreservation of oil seeds of European hazelnut (*Corylus avellana*). *Annals of Applied Biology* **163**:351–358.
- Morais Ferreira JM, Azevedo BM, Silva FGD e., Luccas V, Bolini HMA. 2016. Isosweetness concentrations of sucrose and high-intensity sweeteners and antioxidant activity in white chocolate with functional properties. *International Journal of Food Science and Technology* **51**:2114–2122.
- Motta TMC, Hoff RB, Barreto F, Andrade RBS, Lorenzini DM, Meneghini LZ, Pizzolato TM. 2014. Talanta Detection and con fi rmation of milk adulteration with cheese whey using proteomic-like sample preparation and liquid chromatography – electrospray – tandem mass spectrometry analysis. *Talanta* **120**:498–505. Elsevier. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.093>.
- Oracz J, Nebesny E, Zyzelewicz D. 2014. Effect of roasting conditions on the fat, tocopherol, and phytosterol content and antioxidant capacity of the lipid fraction from cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. cultivars. *European Journal of Lipid Science and Technology* **116**:1002–1014.
- Ozturk G, Young GM. 2017. Food Evolution : The Impact of Society and Science on the Fermentation of Cocoa Beans. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **16**:431–455.
- Perini M, Bontempo L, Ziller L, Barbero A, Caligiani A, Camin F. 2016. Stable isotope composition of cocoa beans of different geographical origin. *Journal of Mass Spectrometry*:684–689.
- Picariello G, Sacchi R, Fierro O, Melck D, Romano R, Paduano A, Motta A, Addeo F. 2013. High resolution ¹³C NMR detection of short- and medium-chain synthetic triacylglycerols used in butterfat adulteration. *European Journal of Lipid Science and Technology* **115**:858–864.
- Poonia A, Jha A, Sharma R, Singh HB, Rai AK, Sharma N. 2017. Detection of adulteration in milk: A review. *International Journal of Dairy Technology* **70**:23–42.
- Rahmati S, Julkapli NM, Yehye WA, Basirun WJ. 2016. Identification of meat origin in food

- products-A review. *Food Control* **68**:379–390. Elsevier Ltd. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.013>.
- Riethmüller E, Alberti Á, Tóth G, Béni S, Ortolano F, Kéry Á. 2013. Characterisation of diarylheptanoid- and flavonoid-type phenolics in *Corylus avellana* L. Leaves and bark by HPLC/DAD-ESI/MS. *Phytochemical Analysis* **24**:493–503.
- Rohman A, Man YBC. 2011. Palm oil analysis in adulterated sesame oil using chromatography and FTIR spectroscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology* **113**:522–527.
- Ruiz Orduna A, Husby E, Yang CT, Ghosh D, Beaudry F. 2017. Detection of meat species adulteration using high-resolution mass spectrometry and a proteogenomics strategy. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* **34**:1110–1120. Taylor & Francis. Dostupné z <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1329951>.
- Russo R, Cusano E, Perissi A, Ferron F, Severino V, Parente A, Chambéry A. 2014. Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the detection of durum wheat contamination or adulteration. *Journal of Mass Spectrometry* **49**:1239–1246.
- Sassi M, Arena S, Scaloni A. 2015. MALDI-TOF-MS Platform for Integrated Proteomic and Peptidomic Profiling of Milk Samples Allows Rapid Detection of Food Adulterations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**:6157–6171.
- Sharma R, Rajput YS, Poonam, Dogra G, Tomar SK. 2009. Estimation of sugars in milk by HPLC and its application in detection of adulteration of milk with soymilk. *International Journal of Dairy Technology* **62**:514–519.
- Silva SA da, Torres EAF d. S, Almeida AP de, Sampaio GR. 2018. Polycyclic aromatic hydrocarbons content and fatty acids profile in coconut, safflower, evening primrose and linseed oils. *Food Chemistry* **245**:798–805. Elsevier. Dostupné z <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.109>.
- Soeriyadi AH, R. Whittaker M, Boyer C, Davis TP. 2013. Soft ionization mass spectrometry: Insights into the polymerization mechanism. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **51**:1475–1505.
- Song HY, Jang HW, Debnath T, Lee KG. 2019. Analytical method to detect adulteration of ground roasted coffee. *International Journal of Food Science and Technology* **54**:256–262.
- Spink J, Ortega DL, Chen C, Wu F. 2017. Food fraud prevention shifts the food risk focus to vulnerability. *Trends in Food Science and Technology* **62**:215–220. Elsevier Ltd. Dostupné z <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.012>.
- Tan J, Kerr WL. 2018. Determining degree of roasting in cocoa beans by artificial neural network (ANN)-based electronic nose system and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Journal of the Science of Food and Agriculture* **98**:3851–3859.
- Ulberth F, Buchgraber M. 2003. Analytical platforms to assess the authenticity of cocoa butter. *European Journal of Lipid Science and Technology* **105**:32–42.
- Upadhyay N, Kumar A, Goyal A, Lal D. 2017. Complete liquification time test coupled with solvent fractionation technique to detect adulteration of foreign fats in ghee. *International Journal of Dairy Technology* **70**:110–118.
- Valière N. 2002. A computer program for analysing genetic GIMLET. *Molecular Ecology Notes* **2**:377–379. Dostupné z <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1471-8286.2002.00228.x-i2/full>.
- Verhaelen K, Bauer A, Günther F, Müller B, Nist M, Ülker Celik B, Weidner C, Küchenhoff H, Wallner P. 2018. Anticipation of food safety and fraud issues: ISAR - A new screening tool to monitor food prices and commodity flows. *Food Control* **94**:93–101.
- Wang J, Kliks MM, Qu W, Jun S, Shi G, Li QX. 2009. Rapid determination of the geographical origin of honey based on protein fingerprinting and barcoding using MALDI TOF MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:10081–10088.

- Wannenmacher J, Gastl M, Becker T. 2018. Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **17**:953–988.
- Wiśniewska P, Dymerski T, Wardencki W, Namieśnik J. 2015. Chemical composition analysis and authentication of whisky. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **95**:2159–2166.

6 Seznam použitých zkratek a symbolů

APCI - chemická ionizace za atmosférického tlaku

API - ionizace za atmosférického tlaku

CAR/DVB - Carboxen/divinylbenzen

CAR/PDMS – vlákno z Carboxen/polydimethylsiloxan

CE - kapilární elektroforéza

CHCl₃ - chloroform

CHOP – chráněné označení původu

CID - kolizně indukovaná disociace

DESI - desorpční ionizace elektrosprejem

DL – detekční limit

DVB/CAR/PDMS – vlákno carboxen/divinylbenzenem s polydimethylsiloxanovým povlakem

EDTA - kyselina ethylendiamintetraoctová

ELISA – analytická metoda využívaná ke kvantitativnímu stanovení různých antigenů (enzyme-linked immuno sorbent assay)

ESI – elektrosprejová ionizační metoda (electrospray ionization)

EU – Evropská unie

FID - plamenový ionizační detektor

TOF - analyzátor doby letu

FT-ICR-MS - iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací v hmotnostní spektroskopii

GC/MS – kapalinová chromatografie (gas chromatography-mass spectrometry)

HCCA - kyselina α -kyano-4-hydroxyskořicová

HCl – kyselina chlorovodíková

HPLC - vysoce účinná kapalinová chromatografie (high-performance liquid chromatography)

HRMS - spektrometry s vysokým rozlišením

HS-SPME/GC MS – mikroextrakce na pevné fázi v plynové chromatografii v hmotnostní spektroskopii

ICR – iontová cyklotronová rezonance

LC/MS – plynové chromatografie (liquid chromatography-mass spectrometry)

LDL - lipoprotein s nízkou hustotou (low density lipoprotein)

MALDI-TOF MS - ionizace za účasti matrice s analyzátozem doby letu (matrix - assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)

MS – hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)

m/z – hmotnost ku náboji

N₂ - dusík

n-3 – omega 3

n-6 – omega 6

NaOH – hydroxid sodný

Na₂CO₃ - uhličitan sodný

NIR – blízká infračervená spektroskopie (near infrared spektroskopie)

NMR – nukleární magnetická rezonance (nuclear magnetic resonance (spectroscopy))

PCA - analýza hlavních komponent (principal component analysis)

Orbitrap – analyzátor elektronové iontové pasti

PDMS-DVB – vlákno z polydimethylsiloxan-divinylbenzenu

RI – retenční index

RP-HPLC - Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází
(reverse phase high performance liquid chromatography)

SO₂ - oxid siřičitý

SPME - mikroextrakce-hmotnostní spektrometrie fungující na pevné fázi

TAG – triacylglycerol

TFA – kyselina trifluoroctová

UHPLC - Ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie
(ultra-high performance liquid chromatography)

USA – Spojené státy americké

ÚV – ultrafialové záření

