

Obsah vybraných syntetických barviv ve zmrzlinách

Bc. Eva Zahradníková

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Eva ZAHRADNIKOVA
Osobní číslo: T090274
Studijní program: N 2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin
Téma práce: Obsah vybraných syntetických barviv ve zmrzlínách

Zásady pro vypracování:

1. Vypracovat literární přehled ke zkoumané problematice
2. Definovat cíle a metodické postupy pro zpracování diplomové práce
3. Zpracování zřískaných dat, komentování výsledků
4. Závěry a doporučení
5. Seznam literatury


Rozsah diplomové práce:
Rozsah příloh:
Forma zpracování diplomové práce: **tiskárenská/elektronická**

Seznam odborné literatury:


- [1] HRUBÝ, J. **Technologie a technika výroby zmrazených potravin**, 1. vydání, SNTL, Praha 1986.
- [2] KLESCHT, V. **Čička v potravinách**, CPRESS, Brno 2007.
- [3] VELÍŠEK, J. **Chemie potravin 3**, OSSIS, Tábor 1999.
- [4] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. **Chemie potravin II**, OSSIS, Tábor 2009.

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.**
Ústav biochemie a analýzy potravin
Datum zadání diplomové práce: **25. února 2011**
Termín odevzdání diplomové práce: **20. května 2011**

Ve Zlíně dne 21. března 2011


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně, 20. 5. 2011

Eva Zahradníková

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Cílem této práce bylo zhodnotit používání některých syntetických barviv při výrobě zmrzliny v zařízeních společného stravování. Použity byly vzorky, odebrané KHS Olomouckého kraje v letech 2008-2010 v zařízeních jim místně příslušících. Byly analyzovány obsahy barviv, pro které je limit stanoven vyhláškou a nepovolená barviva a to metodou vysokoučinné kapalinové chromatografie. Odebráno bylo 13 vzorků, z nichž tři vzorky nevyhověly, ve dvou případech pro překročení hodnot nejvyššího povoleného množství barviv a v jednom případě pro zjištění přítomnosti barviva amarant (E123), které není pro barvení zmrzliny povoleno.

Klíčová slova: přídavné látky, barviva, zmrzlina, alergie, hyperaktivita, kapalinová chromatografie

ABSTRACT

The aim of this thesis was to evaluate the use of certain synthetic dyes in the process of making ice cream in public eating places. The analysed samples were taken by KHS Olomouckého kraje (Olomouc region hygiene station) in 2008-2010 in local eating places. Amount of dyes limited by regulations and amount of unapproved dyes were analysed using high-performance liquid chromatography. 13 samples were collected, and three of them did not stand the test; two of these because they exceeded the maximum allowed dye amount limit, one because of the presence of amaranth dye (E123), which is not allowed to use for colouring ice cream.

Keywords: food additives, food dyes, ice cream, allergies, hyperactivity, liquid chromatography

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Vrchoslavicích, dne.....

.....

Upřímné poděkování patří mému vedoucímu práce prof. Ing. Stanislavu Kráčmarovi, DrSc. za cenné rady a odborné informace, které mi poskytl a za jeho vstřícný přístup.

Poděkování patří také vedoucí Centra hygienických laboratoří ZÚ Ostrava a vedoucí oddělení organických analýz, pracoviště Karviná a KHS Olomouckého kraje.

Dále děkuji své rodině za trpělivost a podporu.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 POTRAVINOVÁ ADITIVA	13
1.1 ROZDĚLENÍ ADITIV	13
1.2 ZNAČENÍ ADITIV	14
1.3 PŘIDĚLOVÁNÍ E-KÓDU.....	15
1.4 POTRAVINÁŘSKÁ LEGISLATIVA K PŘÍDATNÝM LÁTKÁM.....	16
1.5 KONTROLA POUŽÍVÁNÍ ADITIV.....	17
1.6 BARVIVA	18
1.6.1 Rozdělení barviv	19
1.6.2 Vlastnosti a použití.....	20
1.6.3 Seznam povolených barviv a jejich stručná charakteristika.....	22
1.6.4 Metody důkazu a izolace syntetických barviv.....	27
1.6.5 Metody stanovení syntetických barviv	27
2 ZMRZLINA	28
2.1 HISTORIE ZMRZLINY	28
2.2 CHARAKTERISTIKA ZMRZLIN	29
2.2.1 Měkké zmrzliny.....	29
2.2.2 Mražené krémy.....	29
2.2.3 Polotovary pro výrobu zmrzlin.....	31
2.3 VÝROBA TEKUTÉ ZMRZLINOVÉ SMĚSI.....	31
2.3.1 Výroba tekuté zmrzlinové směsi teplou cestou.....	31
2.3.2 Výroba tekuté zmrzlinové směsi studenou cestou	32
3 POTRAVINOVÁ ALERGIE	33
3.1 ALERGICKÉ ONEMOCNĚNÍ.....	33
3.2 ALERGICKÉ REAKCE NA POTRAVINY	35
3.2.1 Neimunologické reakce na potraviny	35
4 CHROMATOGRFIE	36
4.1 ROZDĚLENÍ CHROMATOGRFICKÝCH METOD	36
4.2 KAPALINOVÁ CHROMATOGRFIE.....	37
4.2.1 Jednotlivé prvky a součásti kapalinové chromatografie.....	39
II PRAKTICKÁ ČÁST	42
CÍLE PRÁCE	43
5 MATERIÁL A METODICKÝ POSTUP	44

5.1	ODBĚR VZORKŮ, TRANSPORT, SKLADOVÁNÍ A PŘÍPRAVA VZORKŮ K ANALÝZE	44
5.2	PODSTATA ZKOUŠKY	44
5.3	CHEMIKÁLIE	44
5.3.1	Základní chemikálie	44
5.3.2	Referenční materiály	45
5.3.3	Příprava, standardizace, skladování	45
5.3.4	Bezpečnostní opatření	46
5.4	PŘÍSTROJE A POMŮCKY	46
5.5	KALIBRACE	47
5.6	POSTUP ZKOUŠKY	47
5.6.1	Zpracování vzorků	47
5.6.2	Chromatografické stanovení	48
5.7	VÝPOČET A VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ	48
5.7.1	Výpočetní schéma	48
5.7.2	Zaokrouhlování	49
5.7.3	Zajištění kvality	49
5.7.4	Meze detekce a nejistoty výsledků	50
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	51
6.1	VÝSLEDKY ODBĚRŮ VZORKŮ	51
6.2	DISKUZE	54
	ZÁVĚR	58
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	63
	SEZNAM TABULEK	66
	SEZNAM PŘÍLOH	67

ÚVOD

Výroba zmrzliny ze sypkých práškových směsí tzv. teplou nebo studenou cestou se stala již tradiční technologií, kterou používají provozovatelé cukráren a dalších provozoven poskytujících stravovací služby. Především při výrobě zmrzliny teplou cestou může docházet k degradaci přírodních barviv obsažených ve směsích. Tato skutečnost podněcuje provozovatele k „vylepšování“ zmrzliny dobarvením syntetickými barvivy v tržní síti běžně dostupnými jako tzv. potravinářské barvy.

Mnohdy jsou barviva dávkována nekvalifikovaně v nepřipustných množstvích, nebo jsou používána barviva nepovolená.

Všeobecně platí, že potravinářská aditiva, mezi která barviva patří, mohou u zvláště citlivých jedinců vyvolat některé nepříznivé reakce. Nejsou sice v naprosté většině takového charakteru, aby ohrožovaly život, může se však jednat o hyperaktivitu dětí, snížení imunity, alergie apod.

Požadavky na používání barviv stanoví vyhláška č.4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin.

TEORETICKÁ ČÁST

1 POTRAVINOVÁ ADITIVA

Potravinová aditiva, nebo-li potravinářské přídatné látky, jsou takové sloučeniny nebo směsi, které se přidávají k potravíně při výrobě, zpracování nebo balení, aby zvýšily její kvalitu (prodloužily trvanlivost, zlepšily chuť, vůni, barvu, texturu, výživovou hodnotu, technologické vlastnosti). Některá aditiva jsou i přirozenou součástí potraviny. Jako potraviny se však samostatně nepoužívají, nemusí mít výživovou hodnotu [1]. Potravinová aditiva (někdy označována jako cizorodé látky) patří do skupiny chemického nebezpečí z potravin a pokrmů [2].

Druh a množství aditivních látek, které se po úpravách mohou v potravinách vyskytovat, stanovují příslušné zákony.

Ve světě je celkem používáno 2500 potravinových aditiv [3].

Přítomnost přídatných látek musí být uvedena na obalu názvem nebo číslem – kódem E. V nutných případech musí být uvedeno upozornění na možnosti negativního ovlivnění zdravotního stavu člověka [1].

1.1 Rozdělení aditiv

Veškeré přídatné látky do potravin se dělí na [1]:

- přídatné látky (antioxidanty, barviva, konzervanty, regulátory kyselosti, tavící soli, kypřící látky, náhradní sladidla, látky zvýrazňující chuť a vůni, zahušťovadla, želírující látky, modifikované škroby, stabilizátory, emulgátory, nosiče, rozpouštědla, protispékavé a leštící látky, balící plyny, propelenty, odpěňovače, pěnotvorné látky, zvlhčující látky, plnidla, zpevňující látky, sekvestranty a látky zlepšující mouku),
- pomocné látky - používají se při přípravě potravin z technologických důvodů, nestávají se potravinami, ale jejich zbytky se mohou objevit v potravě v nevýznamném množství (např. silikonový olej),
- látky určené k aromatizaci - přidávají se proto, aby potravina získala vůni a chuť, kterou by jinak neměla,

- potravinové doplňky – to jsou látky s biologickými účinky, používají se k fortifikaci potravy (vitamíny, minerály, některé aminokyseliny, esenciální mastné kyseliny).

Nejčastěji se podle účelu používání rozeznává šest hlavních skupin aditivních látek [4]:

1. látky prodlužující údržnost
2. látky upravující aróma
3. látky upravující barvu
4. látky upravující texturu
5. látky zvyšující biologickou hodnotu
6. další aditivní látky

1.2 Značení aditiv

Přítomnost aditiv v potravině musí být označeno na obale, a to v sestupném pořadí podle toho, v jakém množství jsou v potravině obsaženy. Obsažení přídatné látky se na obale označuje tak, že se uvede název nebo číselný kód E nebo obojí. Kód E se skládá z písmena E a trojmístného čísla. Identifikace číslem E znamená kód, pod nímž je přídatná látka označována v mezinárodním číselném systému [5,6,7].

Označení kódem „E“ a následujícím trojmístným nebo čtyřmístným číslem znamená, že uvedená přísada je evidována Evropskou komisí pro zdravé potraviny a je zařazena jako látka zdravotně nezávadná, povolená k používání při výrobě potravin, ale za přesně definovaných podmínek. Takto označené mohou být pouze přídatné látky, které prošly složitými toxikologickými testy, trvající několik let a byly provedené v nezávislých toxikologických laboratořích v různých zemích světa.

Toxicita každé látky závisí na dávce, na fyziologickém stavu člověka (např. kojenci, děti, těhotné a kojící ženy, běžná populace), na typu potravin (běžná spotřeba, nápoje přístupné dětem, speciality s nižší frekvencí spotřeby), na následném technologickém zpracování nebo kuchyňské úpravě a také na případném vzájemném působení (interakci) mezi jednotlivými aditivy, případně mezi aditivy a přirozenými složkami potravin [6].

V příjmu přídatných látek by měl být v každém případě brán ohled na děti. Můžeme se domnívat, že příjem aditiv stravou vyjádřený na tělesnou hmotnost dítěte může být nakonec znatelně vyšší než u dospělých jedinců. Jako příklad slouží vysoká konzumace oblíbených dětských nápojů, které obsahují mnoho přídatných látek, včetně barviv. I když jsou všechny ingredience označené jako bezpečné v určitém použitém množství, nebyly provedeny testy, ve kterých by se hodnotilo, jak tyto látky reagují navzájem.

Kromě názvu nebo E kódu musí být na obalu výrobku uveden i název příslušné kategorie, do které látka patří. Některé přídatné látky patří podle účelu použití do několika kategorií, ale uvádí se pouze název kategorie, která odpovídá účelu, pro který je látka v potravině použita. Jestliže by mohla mít látka nepříznivý vliv na zdraví člověka (při nadměrném používání taková možnost existuje), musí být tato skutečnost uvedena na obale [5].

1.3 Přidělování E-kódu

Přidělení E-kódu je složitý a velice nákladný proces. Výrobce si nedovolí přihlásit k registraci přídatnou látku, jejíž naprostou nezávadností si není jist. Žadatel o povolení nové přídatné látky musí předložit příslušné organizaci (v EU je to EFSA) žádost, ve které jsou mimo jiné výsledky laboratorních testů a testů toxicity na zvířatech. Pokud EFSA uzná dodané informace za průkazné, předá nově zaváděné aditivum deseti nezávislým akreditovaným laboratorům. Ty provedou standardní zkoušky podle metodiky EFSA [8]. Toxicita látky se vyšetřuje na minimálně šesti druhích pokusných zvířat, z nichž musí být minimálně 3 druhy pokusných zvířat savci. Jsou nutné tři typy toxikologických testů: *in vitro* (tkáňové kultury), *in vivo* („nižší“ živočichové), *in vivo* („vyšší“ živočichové) [3]. Podrobné testy určí hodnotu NOAEL (No Observed Adverse Effect Level), tedy hladinu zkoumané látky, u které ještě nejsou pozorovány žádné nepříznivé vlivy na testovaném organismu (hodnota NOAEL tedy stanovuje, při jaké koncentraci je zkoumaná látka pro testovaný organismus dosud zdravotně nezávadná - bezpečná). Protože však testy také počítají s námitkou, že pokusné zvíře může mít jiný metabolismus než organismus člověka, hodnota NOAEL se ještě dělí bezpečnostním faktorem, což je hodnota 100 nebo 1000. Teprve jedna tisícina nebo jedna setina hodnoty NOAEL pak udává zdravotně nezávadnou hranici pro lidský organismus, a tou je hodnota ADI (Acceptable Daily Intake), tedy přijatelná denní dávka. Ta je vyjádřena v mg na 1kg tělesné hmotnosti. Pro přepočítání na průměrné-

ho spotřebitele se užívá hodnota 60kg a vyjadřuje se v mg/os. Tímto je udělen denní limit spotřeby dané látky pro člověka ze všech druhů potravin. Rozumí se tím, že při celoživotním dodržování hladiny ADI nebude mít sledovaná látka negativní dopad na organismus člověka [5,8].

Po provedení těchto zkoušek předá EFSA výsledky pověřeným orgánům jednotlivých členských zemí EU (u nás je to MZ, které zřizuje vědecké výbory a Český úřad pro bezpečnost potravin, který je na Mze). Po uplynutí stanoveného času na vyhodnocení zaujmou stanovisko, které se pak sdělí zpět EFSA a ta, pokud je stanovisko ve všech členských zemích kladná, přidělí aditivu E-kód podle vlastnosti aditiva. Schválení aditiva v EU nemusí však znamenat, že toto schválení platí i pro ostatní oblasti (USA, Japonsko, Austrálie) a naopak.

Dále rozdělujeme aditiva na zakázaná, tj. taková, která byla v EFSA testována a nespĺnila podmínky pro používání, nepovolená, tj. taková, u nichž testy dosud nejsou ukončeny a nebezpečná, tj. taková která mohou u citlivých osob vyvolat nežádoucí efekt [8].

1.4 Potravinářská legislativa k přídatným látkám

Při schvalování potravinářských přídatných látek se musí určit potraviny, ke kterým lze tyto látky přidávat a podmínky pro jejich přidávání. Používat se mají v nejnižším množství nezbytném k dosažení požadovaného účinku. Musí se zohlednit přijatelný denní příjem pro dané aditivum, pravděpodobný denní příjem ze všech zdrojů a působení na zvláštní skupiny konzumentů, např. alergiky. Po zohlednění všech ukazatelů se stanoví hodnota **nevyššího povoleného množství (NPM)**, vztahující se na potraviny ve stavu, v jakém se uvádějí na trh. Přídatné látky, pro které není stanovena hodnota NPM, se používají v **množství nezbytně nutném (NM, quantum satis)** k dosažení požadovaného technologického účinku [9].

Povolené přídatné látky a podmínky jejich použití jsou shrnuty:

- v rámci ES je používání přídatných látek limitováno Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008, o potravinářských přídatných látkách, které stanoví společná pravidla pro všechny země ES [10],

- v ČR ve vyhlášce č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin [11],
- ve vyhlášce č. 54/2002 Sb. se stanoví zdravotní požadavky na identitu a čistotu přídatných látek [12].

Při výrobě potravin mohou být použity pouze přídatné látky uvedené v těchto předpisech, a to pouze za uvedených podmínek.

Použití přídatných látek je omezeno legislativně s ohledem na charakter přídatné látky a potraviny a na spotřebitelskou skupinu (např. výživa pro kojence a malé děti). Přídatné látky jsou rozděleny do dvou skupin:

- přídatné látky obecně povolené při výrobě potravin
- přídatné látky povolené pouze pro některé potraviny nebo skupiny potravin

Dále je v legislativě uveden seznam potravin nebo skupin potravin, pro něž mohou být použity pouze některé přídatné látky, a seznam potravin, ve kterých se nesmí (pokud není stanovena výjimka) přídatné látky používat [9].

1.5 Kontrola používání aditiv

V EU je zaveden systém rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF). Ten zajišťuje dohled nad potravinami vyráběnými v EU nebo do EU dováženými a zajišťuje dodržování zákazu prodeje nebo likvidaci nevyhovujících potravin v celé EU. Evropská Komise, členské státy EU a Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) vytváří síť kontrolních pracovišť. Ty dohlížejí na dodržování platných regulačních předpisů v EU. Za ČR hlášení do této sítě podává SZPI. V hlášení se především zaměřuje na:

- a) použití nepovolených aditiv do potravin
- b) nepovolené použití schválených aditiv do výrobků, pro které nejsou schválena
- c) použití schválených aditiv ve vyšší dávce než povoluje schvalovací protokol

Rovněž se vyhodnocuje dodržení ADI (aby bylo zajištěno, že spotřebitel nebude konzumovat vyšší dávku aditiv). V ČR spotřebu aditiv sleduje Státní zdravotní ústav (SZÚ). Hlavní pozornost je zaměřena na sladidla, konzervační látky a barviva.

Posuzování nezávadnosti aditiv je neustálý proces. Trvale probíhá výzkum vedoucí k zjišťování vlastností již schválených aditiv za nových případně změněných podmínek. V případě zjištění, že aditivum může představovat riziko, zopakuje se celý schvalovací proces [8].

1.6 Barviva

„Jsou nejpoužívanějšími přídatnými látkami. Logika tohoto faktu tkví v tom, že tak jako u oblečení, nábytku, spotřební elektroniky, stejně tak u jídla sehrává v posledních letech design významnou roli. Snahou výrobců je zaujmout v první řadě zákaznickovy oči. Kdyby nám zmrzlinář prodal opravdu pravou pistáciovou zmrzlinu, tak bychom ji asi nekoupili, protože s brčálově zelenou zmrzlinou, na kterou jsme zvyklí, má velmi málo společného“ [5].

Barviva hrají při výrobě potravin velmi důležitou roli, protože barva potravin často utváří první dojem u spotřebitele [5].

Důvody přidávání potravinářských barviv do potravin:

- barviva jsou látky, které udělují potravině barvu, kterou by sama o sobě neměla, potravina tak získá lepší a lákavější vzhled [5]
- ztráta barvy potravin, ke které došlo v důsledku technologického procesu její výroby, použití barviv umožňuje získat požadované zbarvení potravin [5]
- stabilizace přirozené barvy potravin - je to z důvodů především estetických, nezanedbatelné jsou i důvody fyziologické, jelikož atraktivní barva mimo jiné povzbuzuje sekreci žaludečních šťáv [1]
- standardizace zbarvení, např. kompenzace sezónních výkyvů [9]

Pokud je v některých případech přirozená barva potravin nežádoucí, provádí se bělení [9].

1.6.1 Rozdělení barviv

Barviva se dělí na [5]:

- Barviva přírodního původu, jsou získávána výlučně z přírodních zdrojů rostlinných, živočišných i nerostných. Např. barviva ze semen (bixin), ovoce (anthokyany) a zeleniny (karoteny).
- Barviva identická s přírodními, která jsou po chemické stránce stejná jako přírodní barviva, jsou však vyráběna synteticky nebo pomocí mikroorganismů, např. barviva (karoteny).
- Barviva vyráběná synteticky z vysoce přečištěných ropných produktů na rozdíl od minulosti, kdy jejich zdrojem byl uhelný dehet. Syntetická barviva musí obsahovat minimálně 85 % čistého barviva, zbytek tvoří nečistoty ve formě anorganických solí, sloučenin kovů a organických látek. Např. tartrazin, indigotin, chinolinová žluť.

Syntetická barviva mají všeobecně intenzivnější barvu než barviva přírodní, mají stálý odstín barvy a nevňášejí do barvené potraviny charakteristické vůně a chuti. Syntetická barviva proto získala v potravinářské praxi široké uplatnění, a to hlavně z ekonomických a praktických důvodů (jsou levnější a stabilnější než přírodní barviva). Podle struktury se člení na [9]:

- Azobarviva (monoazo-, trisazo- až polyazobarviva)
- Difenylmethanová trifenylmethanová barviva
- Pyrazolonová barviva
- Nitrobarviva
- Xanthenová barviva
- Anthrachinonová Argova
- Chinolinová barviva
- Indigoidní barviva

Podle fyzikálně-chemických vlastností se syntetická barviva třídí na [9]:

- Kyselá
- Zásaditá
- Neutrální

Podle rozpustnosti se syntetická barviva dělí na [9]:

- Rozpustná ve vodě
- Rozpustná v tucích

Všechna syntetická barviva povolená k barvení potravin jsou ve vodě rozpustné sloučeniny. Nejvíce jsou zastoupena kyselá barviva, která obsahují sulfonové skupiny, karboxylové skupiny a hydroxyskupiny (většina azobarviv, některá di- a trifenylmethanová barviva, nitrobarviva a xanthenová barviva). Zásaditá barviva mají jednu nebo více volných nebo substituovaných aminoskupin (většina di- a trifenylmethanová barviva a některá azobarviva). Všechna barviva se používají ve formě solí. Specifické vlastnosti barviv závisí na přítomných funkčních skupinách – chromoforů (ty jsou zodpovědné za chování barviv při oxidačních a redukčních reakcích) a auxochromů (ty jsou zodpovědné za barvicí vlastnosti a chování vůči kyselinám, alkáliím, světlu a teple) [9].

1.6.2 Vlastnosti a použití

Mimo zdravotní nezávadnost se požaduje, aby syntetická barviva byla chemickými jedinci, neovlivňovala, s výjimkou barvy, jiné organoleptické vlastnosti potraviny, při změnách pH, na světle a vůči působení některých dalších vlivů byla stálá. V současnosti není žádné barvivo, které by zcela vyhovovalo pro všechny aplikace a situace. K barvení se často používá několika složkových směsí barviv.

Syntetická barviva se dodávají:

- Ve formě disperzí, past, vodných nebo nevodných roztoků (hlavně v propylenglykolu či glycerolu) nebo v pevném stavu (jako ve vodě rozpustné granule, prášek)
- Ve formě ve vodě nerozpustných laků

Pevné přípravky se hlavně používají pro barvení nápojů, disperze a pasty pro barvení cukrářských pekařských výrobků, tekuté barvy pro mléčné výrobky.

Laky jsou vhodné zejména pro barvení potravin obsahujících více tuků a pro potraviny s nízkým obsahem vody.

Některá barviva se mohou používat jen pro určité účely a je stanoveno jejich nejvyšší povolené množství. Předpisy také specifikují potraviny, které mohou být barveny pouze určitými barvivy. Vymezené jsou i potraviny, které není dovoleno vůbec barvit. Většinou se jedná o nezpracované potraviny, mléko, rostlinné oleje a živočišné tuky, minerální a stolní vody, vaječné obsahy, mouku, chléb, těstoviny, cukr, maso, ryby, víno, med, vinný ocet, ovocné a zeleninové šťávy, rajčatový protlak a omáčky, kávu, kakaové a čokoládové výrobky, kojeneckou a dětskou výživu a některé další [9].

S některými syntetickými barvivy je spojována řada nežádoucích účinků, často se jedná o dětskou hyperaktivitu. Hyperaktivita je fyzický stav, který se projevuje abnormální aktivitou, impulzivností, vznětlivostí. Hyperaktivita je často spojována s ADHD, což je hyperaktivita s poruchou pozornosti [10].

Existují azobarviva, která jsou potenciálně škodlivá. Patří sem např. amarant (E 123), erythrosin (E 127), azorubin (E 122), tartrazin (E 120). Tyto azobarviva byla v potravinářské výrobě před vstupem ČR do EU zakázána pro jejich možnou karcinogenitu, avšak dnes jsou povolena. Žluté syntetické azobarvivo tartrazin (E 102) je nejčastěji jmenovanou látkou v diskusích o nežádoucích účincích syntetických barviv na lidské zdraví. Tartrazin se používá v pekařských a mléčných výrobcích, jogurtech, dezertech, sypkých směsích, cukrovinách, zmrzlínách, polévkách, omáčkách, hořčici, nealkoholických i alkoholických nápojích, žvýkačkách a syntetických barvách pro barvení potravin v domácnosti. Dále se také používá k barevnému rozlišení pilulek a barvení krmiv pro domácí zvířata. Tartrazin může při neúměrné konzumaci vyvolat alergické reakce a astmatické záchvaty u citlivých jedinců. U vnímavých osob se po požití mohou dostavit následující potíže: svědící kopřivka, purpura, otoky, rýma, migrény a rozmazané vidění [3]. Některé studie uvádějí, že tyto reakce mohou vzniknout zejména u osob citlivých na aspirin (podle jedné studie je 15% lidí trpících nesnášenlivostí aspirinu přecitlivělých na tartrazin) a u alergických astmatiků. Jiné zdroje tuto souvislost striktně popírají. Látka je také slučována s dětskou hyperaktivitou [5]. U řady syntetických barviv, hlavně barviv rozpustných v tucích, byly zjištěny karcino-

genní účinky (např. u máslové žluti). U mnohých syntetických barviv je také prokázáno hemolytické působení, inhibice některých enzymů a negativní působení na žaludeční sekreci [14].

V současné době je povoleno mnohem více barviv než dříve a je očekávané, že se s těmito látkami budeme setkávat čím dál tím více. Pořád si však můžeme vybírat potraviny, které buď barviva neobsahují vůbec nebo obsahují pouze barviva obecně považovaná za bezpečná. Trendem se také stává používat přírodní barviva nebo přírodně identická barviva. Příkladem tohoto přístupu jsou mražené krémy neboli zmrzliny a nanuky. Hodně velkých výrobců používá pouze přírodní barviva, která většinou nejsou spojována s nežádoucími účinky. Mezi tyto výrobce patří např. Algida či Schöller [5].

1.6.3 Seznam povolených barviv a jejich stručná charakteristika

K přibarvování se obvykle nepoužívají všechna povolená barviva společně, ale maximálně kombinace dvou až tří barviv [3,15,16,17,18].

E 100: Kurkumin je oranžové až žluté přírodní barvivo, které se získává z kořenů turmeriku. Je tradičně používán v asijské kuchyni a je považován za bezpečnou látku.

E 101: Riboflavin: jde o vitamin B2. Je to přírodní nebo přírodně identické oranžovožluté barvivo. Nachází se v mléce, másle a sýru, kde je barví do žluta. Je považován za bezpečnou přídatnou látku.

E 102: Tartrazin je citronově žluté syntetické azobarvivo. Jde o nejčastěji jmenovanou látku v diskusích o nežádoucích účincích syntetických barviv na lidské zdraví. Může vyvolat alergické reakce a astmatické záchvaty u citlivých jedinců. Tyto reakce mohou nastat zejména u osob citlivých na aspirin. Spojováno je také s dětskou hyperaktivitou. Je nejčastěji obsažen v hořčičných omáčkách, čokoládových tyčinkách, pudincích, bonbonech, a dalších cukrovinkách nebo lahůdkách.

E 104: Chinolinová žlut' je syntetické barvivo a svou jasně zelenožlutou barvou přitahuje dětské zákazníky k sladkostem a limonádám. Tato látka může vyvolávat či zhoršovat kopřivku a způsobovat další nežádoucí reakce u citlivých jedinců. Je spojována s dětskou hyperaktivitou. Nachází se v čokoládových tyčinkách, cukrovinkách, bonbonech, pudincích a v energetických nápojích.

E 110: Žlutí SY je žluté až oranžové syntetické barvivo, které je oblíbené u výrobců dětských sladkostí. Látka může vyvolat alergické reakce (vyrážky, otoky, zvracení), kopřivku a astmatické záchvaty u citlivých osob. Údajně se přecitlivělost na toto barvivo často kombinuje s nesnášenlivostí aspirinu. Látka je také spojována s dětskou hyperaktivitou. Je nejčastěji obsažená v hořčicích, pudincích, bonbonech a sušenkách.

E 120: Košenila je přírodní červené barvivo, získávané vodou z vysušených těl sameček hmyzu *Dactylopius coccus*. U citlivých jedinců barvivo způsobuje alergické reakce, ty se mohou projevit například vyrážkou, ale byly zaznamenány i případy život ohrožujícího anafylaktického šoku a astmatu. S dětskou hyperaktivitou je košenila také spojována.

E 122: Azorubin je červené syntetické barvivo. U citlivých jedinců (opět se jedná o lidi trpící nesnášenlivostí aspirinu a astmatiky) se mohou po požití dostavit reakce podobné alergii (např. kopřivka) a různé další projevy nesnášenlivosti. I azorubin je spojován s dětskou hyperaktivitou. Nachází se v pudincích, cukrovinkách a lahůdkách.

E 123: Amarant je syntetické modročervené azobarvivo (kulturní plodina amarant kromě názvu nemá s barvivem nic společného). Je to možný karcinogen, navíc způsobuje alergické reakce (např. kopřivku) u citlivých jedinců (astmatiků, lidí trpících nesnášenlivostí aspirinu), spojován s dětskou hyperaktivitou.

E 124: Ponceau 4R je syntetické jasně červené barvivo přidávané do mnoha sladkostí pro děti. U astmatiků a lidí citlivých na aspirin může vyvolat alergické reakce. Je také spojitost s dětskou hyperaktivitou. Obvykle je obsaženo v pudincích, cukrovinkách a ve sladkém pečivu.

E 127: Erythrosin je červené barvivo, které se ve světě široce užívá v potravinách, lécích a kosmetice. V ČR je použití omezeno na koktejlové a kandované třešně. Erythrosin se při vyšších teplotách částečně rozkládá za vzniku jodidových iontů, ty mohou ovlivnit činnost štítné žlázy (u myši způsobuje nádory štítné žlázy). Může být spojován se změnami chování a přecitlivělostí na světlo. Způsobuje poruchy funkce štítné žlázy.

E 129: Červeň Allura AC je červené azobarvivo, které se používá nejen v potravinách, ale také k označování masa. Červeň Allura AC může působit alergické reakce u citlivých jedinců (hlavně nesnášejících aspirin) a je spojován s dětskou hyperaktivitou. Nachází se v tyčinkách myslí, čokoládových tyčinkách a bonbonech.

E 131: Patentní modř V je jasně modré syntetické barvivo, které se příliš často nepoužívá. Je mu připisována řada nežádoucích účinků u citlivých jedinců (vyrážka, svědění, nevolnost, problémy s dýcháním, třes a snížení krevního tlaku).

E 132: Indigotin je tmavomodré syntetické barvivo, které je obsažené v mléčných výrobcích, zmrzlínách, různých sladkostech. Indigotin může způsobovat nevolnost, zvracení, vysoký krevní tlak, kožní vyrážky, dýchací problémy a další alergické reakce u citlivých jedinců a je možný zvířecí karcinogen.

E 133: Brilantní modř FCF je modré syntetické barvivo. Často se používá v kombinaci s dalšími syntetickými barvivy a je považováno za jednu z možných příčin hyperaktivity u dětí.

E 140: Chlorofyly a chlorofyliny jsou přírodní barviva, jimiž hlavními zdroji jsou sytě zelené druhy rostlin (kopřiva, špenát, vojtěška). Nejsou známy žádné nežádoucí účinky těchto látek a jsou naopak prospěšná.

E 141: Měďnaté komplexy chlorofylů a chlorofylinů jsou olivově zelená barviva a získávají se z přírodních zelených pigmentů chlorofylů a chlorofylinů. Nejsou známy žádné nežádoucí účinky a považují se za bezpečná.

E 142: Zeleň S je modrozelené syntetické barvivo. Často se používá v kombinaci se žlutou za vzniku listově zelené. V malém množství je pravděpodobně neškodné.

E 150a: Karamel, E 150b: Kaustický sulfitový karamel, E 150c: Amoniakový karamel, E 150d: Amoniak-sulfitový karamel je tmavě hnědá kapalná či pevná látka. Vzniká opatrným zahříváním cukrů. Tyto látky se považují za bezpečné, protože nebyly prokázány žádné nežádoucí účinky. Karamel je však spojován s dětskou hyperaktivitou.

E 151: Brilantní čern BN je černé syntetické barvivo. Používá se hlavně v sladkostech. Také čern BN spojována s dětskou hyperaktivitou.

E 153: Medicinální uhlí z rostlinné suroviny se vyrábí úplným zuhelněním dřeva, celulózy, rašeliny, skořápek kokosových ořechů apod. a následným rozemletím na jemný prášek. Při této výrobě vznikají karcinogenní kontaminanty, které by ale měly být pevně zabudované v částech barviva a neuvolňovat se do těla.

E 154: Hněď FK je syntetické žlutohnědé barvivo používané k barvení uzených ryb. Může u citlivých jedinců vyvolat astmatický záchvat a různé alergické reakce a je spojováno s dětskou hyperaktivitou.

E 155: Hněď HT je červenohnědé barvivo. Někteří jedinci (astmatici a lidé trpící nesnášenlivostí aspirinu) mohou být přecitlivělí na toto barvivo a mohou se u nich projevit alergie a další nežádoucí reakce. Je spojováno s dětskou hyperaktivitou.

E 160a: Karoteny jsou přírodní (nebo přírodně identická) oranžově žlutá barviva, která tvoří přirozenou složku lidské potravy. Jde o naprosto neškodnou a zdraví prospěšnou látku.

E 160b: Annato, bixin, norbixin je jedno z nejstarších přírodních barviv. Používá se k barvení potravin, textilií a kosmetiky. Při styku s pokožkou může způsobovat podráždění pokožky, možné i alergické reakce. Žádné další nežádoucí účinky nejsou známy.

E 160c: Paprikový extrakt, kapsanthin, kapsorubin je barvivo získané extrakcí pomocí rozpouštědla z plodů červené papriky. Barvivo se považuje za bezpečné, nejsou známy žádné nežádoucí účinky.

E 160d: Lykopen se získává pomocí rozpouštědel z rajčat. Nejsou známy žádné nežádoucí účinky a považuje se za bezpečné barvivo. V současnosti se prakticky nepoužívá.

E 160e: Beta-apo-8'-karotenal se vyskytuje přirozeně v mnoha rostlinných druzích (v citrusových plodech, zelenině, trávě). Nežádoucí účinky tohoto barviva nejsou známy, v těle se naopak částečně mění na vitamin A.

E 160f: Ethylester kyseliny beta-apo-8'-karotenové je oranžové barvivo odvozené od karotenoidů a je podobné beta-apo-8'-karotenalu (E 160 e). Taktéž nejsou známy žádné nežádoucí účinky a barvivo se považuje za bezpečné, v těle se částečně přeměňuje na vitamin A.

E 161b: Lutein je žlutý pigment zelených paprik a listové zeleniny a patří mezi karotenoidy. Nežádoucí účinky luteinu nejsou pravděpodobné. Vysoké dávky naopak snižují riziko vzniku rakoviny plic.

E 161g: Kanthaxanthin je růžové až červené barvivo patřící mezi karotenoidy. Přirozeně se nachází v některých houbách, mořských řasách, rybách a korýších. Podílí se také na

zbarvení plameňáků a exotického ptactva. Je podezření, že u pacientů, kteří konzumovali vyšší dávky kanthaxanthinu byla zhoršena šeroslepost a noční vidění.

E 162: Betalainová červeň, betanin je pigment, který se nachází přirozeně v některých rostlinách (červené řepě, kaktusových plodech). Barvivo se považuje za bezpečné, jen u velmi malých dětí mohou představovat problém přítomné dusičnany.

E 163: Anthokyany získané fyzikálními postupy z ovoce a zeleniny jsou přírodní intenzívně červené až modré pigmenty, které jsou odpovědné za červené, vínové a modré zbarvení mnoha květin a plodů. Považují se za bezpečná a nejsou známy žádné nežádoucí účinky.

E 170: Uhličitan vápenatý je bílý krystalický prášek. Vyskytuje se v mnoha nerostech (v křídě, vápenci, mramoru) a při konzumaci jako přídatné látky nejsou známy žádné nežádoucí účinky.

E 171: Oxid titaničitý je intenzívně bílý nerozpustný pigment, který se získává hlavně z přírodního materiálu ilmenitu. Je to nerozpustná sloučenina, která se v těle téměř nevstřebává a je považována za bezpečnou přídatnou látku.

E 172: Oxidy a hydroxidy železa jsou potravinářská barviva, která se nepoužívají příliš často. Nejsou známy žádné nežádoucí účinky po konzumaci těchto látek.

E 173: Hliník (v podobě pigmentu) je pigment, který se používá na zákusky jako stříbřité kuličky a jiné zdobení. Jde o kovový hliník v prášku nebo šupinách. Není dostupná žádná studie zkoumající možné nežádoucí účinky konzumace kovového hliníku. Protože, je však velmi snadné vyhnout se konzumaci kovového hliníku, lze tento postup jen doporučit.

E 174: Stříbro (v podobě pigmentu) se používá v dekoračních stříbrných kuličkách na dorty a k dekoraci likérů. O kovovém stříbru toho není moc známo. Málokdo asi běžně konzumuje stříbrné cukrářské ozdoby, přesto je možná lépe se jim vyhýbat.

E 175: Zlato (v podobě pigmentu) se používá při povrchové úpravě cukrovinek a k dekoraci likérů. Je tvořen kovovým zlatem v prášku nebo šupinách. Nejsou známy účinky působení podávání kovového zlata ve stravě, látka však nepatří mezi běžně používané přídatné látky.

E 180: Litholrubin BK je červené syntetické barvivo používané pouze k barvení povrchu tvrdých sýrů. Může vyvolat alergické a nesnášenlivé reakce zejména u astmatiků a lidí citlivých na aspirin. Také je spojováno s dětskou hyperaktivitou.

1.6.4 Metody důkazu a izolace syntetických barviv

Nejznámější postupy důkazu přítomnosti syntetických barviv v různých druzích potravinářských výrobků, jsou vybarvovací zkoušky na odtučněném vlněném vlákne. Používají se taktéž extrakční způsoby pomocí organických rozpouštědel. Dalším používaným způsobem izolace je také adsorpce na polyamid, přírodní křemičitan hlinitý, kaolin, aktivní uhlí. Důkaz přítomnosti barviv u kapalných vzorků je přímo, u tuhých vzorků je po homogenizaci třeba barviva extrahovat vodou [14].

1.6.5 Metody stanovení syntetických barviv

Při identifikaci jednotlivých barviv se využívají spektrální metody v UV a viditelné oblasti, charakteristika absorpčních spekter, fluorescence. Chromatografické (papírová, tenkovrstvá a kolonová), spektrofotometrické a elektrochemické metody se především dříve používaly ke stanovení potravinářských barviv. Nyní největší počet metod spadá do oblasti chromatografických a elektromigračních metod. Často se používá i chemometrie.

Nejvíce se v současnosti používá vysoce účinná kapalinová chromatografie, kapilární zónová elektroforéza, micelární elektrokinetická chromatografie. Jelikož se jedná o kyselá aniontová barviva obsahující karboxy-, sulfo- nebo hydroxyskupiny, které v zásaditém prostředí tvoří negativně nabitě ionty je kapilární elektroforéza ideální metodou ke stanovení těchto látek. CE je schopna separovat všechna barviva s rozdílnými funkčními skupinami během jedné analýzy a v krátkém čase, další výhodou je velmi malá spotřeba vzorku. Určitou nevýhodou kapilární elektroforézy ve srovnání s HPLC je potřeba oddělení látek ze vzorku, které by mohli mít za následek ucpání separační kapiláry. Tato metoda dává velmi dobré výsledky v oblasti syntetických barviv.

Ke stanovení přírodních barviv je vhodnější využít metodu HPLC [14].

2 ZMRZLINA

Zmrzlina je specifická osvěžující poživatina, připravená ze surovin - vody, mléka, smetany, příp. dalších mléčných výrobků, tuků, cukru, s přídavkem různých zahušřovadel, stabilizátorů, emulgátorů, aromatických chuťových přísad, čerstvého ovoce nebo ovocného protlaku a dalších surovin. Společné a typické pro zmrzliny je, že se ze surovin připraví tekutá směs (teplou nebo studenou cestou), která se za nepřetržitého míchání zmrazí a hotová zmrzlina je různým způsobem podávána do oplatkových kornoutů (buď z vaniček na zmrzliny pomocí porcovacích kleští, resp. škrabek, nebo z poloautomatických a automatických výrobníků, které jsou opatřeny dávkovacími kohouty) [19].

2.1 Historie zmrzliny

Dějiny zmrzliny se započaly psát v Řecku, pod Olympem. V písemných záznamech je doloženo, že na sněhu z vrcholu, na kterém sídlili řečtí bohové, si pochutnával řecký spisovatel Simónidés z Keu, který žil v letech 556 – 468 př.n.l. [20]. Podle jiných pramenů již před více než dvěma tisíciletími byly objeveny lahodné a osvěžující účinky zmrzliny a to náhodou. Na dvoře jednoho nejmenovaného císaře jezdcí na koních měli za povinnost denně dodávat sněh z alpských oblastí, aby s ním mohli udržovat nápoje, moučníky a ovoce chlazené. Jednou se stalo, že všechny pokrmy zmrzly. Dvořané nejprve neměli k tomuto důvěru, avšak po ochutnání nešetřil chválou ani císař. Zmrzlinu si tedy vychutnávali jak staří Řekové, tak i Římané. V těchto dobách byla však zmrzlina velkým luxusem a mohlo si ji dovolit jen pár vyvolených. Do hor se posílali běžci a ti si led z vrcholu odevzdávali jako štafetový kolík. Zmrzlina se pak dochucovala medem, ovocnými šťávami a vínem. Takto vylepšená zmrzlina měla pak své milovníky, patřil k nim i Alexandr Veliký a Hipokratés. Zmrzlina ze sněhu byla dlouho jediným zmrzlinovým výrobkem. Celá tisíciletí byl člověk odkázán na přírodní sněh, ten se skladoval v hlubokých jámách [19]. Teprve v roce 1530 se jednomu cukráři podařilo vyrobit umělý led pomocí ledku. První zmrzlinová kavárna byla otevřena v roce 1672 v Paříži. Roku 1790 byl vyvinut stroj na výrobu zmrzliny. Rok 1876 znamenal pro zmrzlinu rozhodující přelom, byla vyvinuta chladnička, na jejímž principu pracují i dnešní chladničky [20].

2.2 Charakteristika zmrzlin

2.2.1 Měkké zmrzliny

Za měkkou zmrzlinu (nazývá se také „soft zmrzlina“) se považuje zmrazená nebo částečně zmrazená potravinu, upravená na tvárnou až mírně tažnou konzistenci bez zjištělných krystalů ledu zmrazením na teplotu nejvýše $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zmrzlina se vyrábí zmrazováním a současným promícháváním (našleháním) různě ochucené základní zmrzlinové směsi.

Mimo zmrzliny hlubokozmrazené, to jsou v podstatě různé druhy měkkých zmrzlin, které jsou v zájmu prodloužení trvanlivosti zmrazovány na velmi nízké teploty ($-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a nižší). Tyto zmrzliny mají však při tak nízkých teplotách tuhou konzistenci, jsou obvykle dodávány ve vaničkách o různém objemu a z různého materiálu (nerez, plasty apod.) a teprve po upravení teploty na -8 až $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vitríně dostanou opět tažnou konzistenci.

Zmrzliny se vyrábějí buď smícháním surovin a různých přísad, jejich tepelným opracováním a následným zmrazením, nebo z práškových zmrzlinových směsí, které se rozmíchají v pitné vodě a potom zmrazí [19]. Klasická točená zmrzlina se připravuje z tekuté směsi během odběru ze stroje na přípravu točené zmrzliny. Vyrábí se kontinuálně, vždy jen potřebné množství pro daný odběr. Mrazí se přímo na místě prodeje ve zmrzlinovém stroji, v němž je zmrzlina při teplotě $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nesmí se převážet a musí se spotřebovat do 48 hodin po zmrazení.

Nebalená zmrzlina točená i porcovaná se dnes většinou vyrábí studenou cestou.

V legislativě není rozlišován prodej zmrzliny točené a kopečkové, ani prodej uvnitř nebo venku [21].

2.2.2 Mražené krémy

Jako mražený krém (nebo-li “hard zmrzliny“) se může označit výrobek získaný současným našleháním a zmrazením homogenizované a pasterované směsi, která obsahuje vodu, tuk, mléčnou tukuprostou sušinu, sacharidy, ochuzující látky a stabilizátory. Vzniklý polotekutý krém je pak ztužený dalším zmrazením pod $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ [2,22]. Mražený krém je tedy výrobek získaný našleháním a zmrazením pasterované a homogenizované smetanové, mléčné nebo vodové ochucené základní směsi pod tlakem a různě formované do tvaru hra-

nolků na špejli nebo bez ní, kostek, tyčinek a dalších tvarů, dortů, kornoutů apod. Před zmrazením probíhá fyzikální zrání směsi při teplotě nejvíce +6 °C a po dobu maximálně 72 hodin. Při zrání dochází k hydrataci bílkovin a přítomný stabilizátor se podílí na tvorbě gelu. Současně probíhá krystalizace některých triacylglycerolů. Tento proces zvyšuje viskozitu směsi, její šlehatelnost a má dobrý vliv na strukturu a konzistenci hotového výrobku. Šlehání a zmrazování probíhá ve speciálních zmrazovačích (freezery). Zmrazená směs se formuje a balí podle jednotlivých druhů, ztužuje a hotové výrobky se skladují při mrazírenských teplotách [23]. Jejich konzistence je jemná, hladká, bez větších hrudek, bez krystalů ledu a bez větších vzduchových dutin. Vnitřní teplota mražených krémů by při dodání neměla být vyšší než -18 °C [16].

Podle použitých surovin se rozlišují tyto hlavní skupiny mražených krémů [2,19]:

- vyrobené výhradně z mléčných surovin
- obsahující rostlinný tuk
- vyrobené z ovocné šťávy s přídavkem mléčného tuku a mléčné tukuprosté sušiny
- vodová zmrzlina vyrobená z vody, cukru a ovocného koncentrátu

Srovnáme-li obě skupiny výrobků, tedy měkké (soft) zmrzliny a mražené krémy zjistíme, že se liší zejména ve smyslových znacích (konzistenci) a dílčími rozdíly v technologii jejich výroby. Měkké zmrzliny mají při porcování a konzumaci tvárnou, tažnou konzistenci, což je dáno jejich teplotou v rozmezí -8 až -12°C oproti mraženým krémům, které jsou naopak tuhé (tvrdé), byť jemné a hladké konzistence, což je dáno jejich teplotou v jádře, která bývá -16 až -18°C [19]. Z hlediska technologie se zmrzlinou nazývá taková směs, která se zároveň míchá a chladí na rozdíl od mražených nebo zmrzlinových krémů, kde se směs nejprve vyšlehá a pak zmrazí [21].

Rozdíl v nášlehu je způsoben tím, že mražené krémy se našlehávají tlakovým vzduchem v kontinuálním zmrazovači, čímž dostávají zášleh hodně nad 100% (až 140%). Měkké zmrzliny mívají většinou zášleh 30 až 40%, při vhánění vzduchu pod tlakem do pracovního válce až 70% (výjimečně až 90%) [19].

2.2.3 Polotovary pro výrobu zmrzlin

Zmrzlinový základ je v podstatě chuťově neutrální produkt, z něhož se po přidání různých surovin a přísad, zejména ochucovacích látek, vyrobí zmrzlinová směs.

Zmrzlinová směs je kapalná hmota, ze které se zmrazením a současným promícháváním vyrobí zmrzlina. Směs obsahuje především mléko, mléčné výrobky, vodu, cukr, vejce a výrobky z nich, tuky, stabilizátory, emulgátory a ochucovadla, musí být pasterována (tepelně ošetřena). Vyjma směsí připravených z polotovarů k tomuto účelu vyrobených ze sušených práškových nebo tekutých zmrzlinových směsí, které byly pasterovány, sterilovány nebo jinak stabilizovány [19, 24].

2.3 Výroba tekuté zmrzlinové směsi

Při výrobě tekuté zmrzlinové směsi je možné použít dva základní technologické postupy [19]:

- a) výroba tekuté zmrzlinové směsi teplou cestou,
- b) výroba tekuté zmrzlinové směsi studenou cestou.

2.3.1 Výroba tekuté zmrzlinové směsi teplou cestou

Výroba tekuté zmrzlinové směsi teplou cestou je tradiční výroba, při níž se za předpokladu dodržení všech stanovených podmínek včetně teplotního a hygienického režimu připraví velmi kvalitní zmrzlina.

Při výrobě zmrzliny teplou cestou musí být dodrženy následující podmínky [19,24]:

- pasterizace – pasterizovat zmrzlinovou směs znamená zahřát ji na dostatečně vysokou teplotu po dostatečně dlouho dobu. Všechny suroviny a přísady s výjimkou ovocné složky a aromatických látek musí být do jedné hodiny po smíchání tepelně opracovány (pasterovány), přičemž teplota nesmí klesnout pod 85°C a musí být udržována nejméně po dobu 2 minut (tzv. mžiková pasterace). Pokud některá ze surovin nesnese uvedenou teplotu, musí být tekutá zmrzlina za stálého míchání udržována při teplotě 72°C po dobu 15 minut nebo při teplotě 65°C po dobu 30 minut. Po skončení ohřevu nastává co nejrychlejší zchlazení na teplotu +4°C. Během za-

hřívání (pasterace) zmrzlinové směsi i jejího následného zchlazování je nutné obsah nádoby neustále promíchávat, aby docházelo k vyrovnávání teploty.

- zrání – fáze zrání nastává tehdy, když se pasterizovaná zmrzlinová směs, která je vychlazená na teplotu $+4^{\circ}\text{C}$ a při této teplotě se promíchává. Tímto procesem se dokončuje hydratace proteinů, stabilizátorů a zbytku sušiny. Obsah volné vody ve zmrzlinové směsi se tímto sníží na minimum (zabrání se tvorbě velkých krystalů ledu, které způsobují hrubou strukturu, tj. „písčítost“ zmrzliny). Nejmenší částice tuku v průběhu zrání zlepšují svoji schopnost zadržet vzduch a kromě vzniku krémově hladké konzistence zmrzliny dochází i ke zvýšení jejího nášlehu až o 10%. U dobře vyzrálé zmrzliny se zbrzdí proces tání a zmrzlina má i větší odolnost vůči tepelným šokům. Doba zrání je nejméně 4 – 6 hodin. Po 12 hodinách je proces zrání dokončen a zmrzlinová směs je vyzrálá a zcela stabilní. Doporučuje se volit dobu zrání v rozmezí od 4 hodin do 48 hodin, není přípustná doba delší než 72 hodin (zrušil by se efekt pasterizace – došlo by k opakované mikrobiologické kontaminaci).

2.3.2 Výroba tekuté zmrzlinové směsi studenou cestou

Při přípravě tekuté zmrzlinové směsi studenou cestou musí být dodrženy tyto podmínky:

Zmrzlinová směs se připravuje z polotovarů k tomuto účelu vyrobených, a to z tepelně opracovaných práškových směsí, sterilovaných protlaků a dalších dekontaminovaných tekutých přípravků jejich smícháváním se studenou převařenou vodou v poměru, který je stanoven nebo doporučen výrobcem příslušné směsi nebo přípravku. Postupuje se buď podle návodu k přípravě uváděného výrobcem příslušné základní báze, nebo stanoveného výrobcem zmrzliny. Zpravidla se nejdříve důkladně promíchají všechny suché ingredience a pak se rozpustí ve vodě, resp. v mléce. Nakonec se přidává ovocná, popřípadě jiná ochuzující pasta a emulgátor (zahuš'ovadlo) [19].

3 POTRAVINOVÁ ALERGIE

Alergie se stala jevem 20. století a na síle pokračuje i v tomto století. Alergiků i přes usilovnou snahu moderní medicíny stále přibývá. Hlavně to platí o alergiích „civilizačních“, kam patří i alergie potravinové. Velký díl na tom má náš jídelníček, který se za posledních několik generací zcela změnil jak ve zdrojích, tak v kvalitě a nakonec i v množství. Potraviny nebezpečně pozbyly kvality, mimo jiné přibylo chemie, resp. přídatných látek [25].

3.1 Alergické onemocnění

Alergie znamená stav přecitlivělosti na určitý alergen. Je to onemocnění nebo reakce způsobená imunitní odpovědí k jednomu nebo více alergenům prostředí, jejichž výsledkem je zánět nebo porucha funkce orgánu. Alergen je opačně biologická nebo chemická substance, která vyvolává alergickou reakci. Termín alergen se používá pro označení vlastní antigenní molekuly, tak i jejího zdroje, např. pylových zrn, zvířecí srsti, hmyzího jedu nebo potravinářského výrobku.

Alergie je jev imunologický. Chorobné projevy se odhalí, jestliže expozice jedince alergenem u něj navodí imunitní odpověď (tzv. senzibilizace). Když dojde k senzibilizaci, je příslušný jedinec bez chorobných projevů do doby, než je opět vystaven působení téhož alergenem. Potom reakce alergenem se specifickou protilátkou nebo senzibilovaným efektorovým lymfocytem vyvolá zánětlivou odpověď, která vede ke vzniku příznaků a projevů alergické reakce. Nejčastější alergická reakce je zprostředkovaná imunoglobulinem E (IgE) [26].

Do imunitního systému je zapojena řada buněk. Pro vyvolání alergické odezvy mají největší význam:

- lymfocyty B: nacházejí se v krvi, brzlíku, mízních uzlinách, slezině
- lymfocyty T: nacházejí se v krvi, brzlíku, mízních uzlinách, slezině, různých orgánech
- žírné buňky (neboli mastocyty): nacházejí se v pojivové a slizniční tkáni a
- bazofily: nacházejí se v krvi

Alergie na potraviny patří většinou do reakcí I. typu neboli reakcí okamžité přecitlivělosti. K těmto reakcím dojde, jestliže se antigeny, např. určité proteiny z pylů nebo potravin vážou ke specifickým předem vytvořeným IgE protilátkám, které jsou vázány k povrchu bazofilů v krvi nebo žírných buněk v tkáních. Tato interakce směřuje k uvolnění mediátorů, např. histaminu, PG, LT a cytokinů., které způsobují akutní zánětlivou reakci. Alergické reakce mohou postihnout skoro všechny orgány a tkáně. Nejčastěji však postihují kůži, dýchací orgány, oči a trávicí ústrojí. Do reakcí I. typu (okamžité přecitlivělosti) jsou tak zapojeny 3 základní složky [26]:

- Antigen
- IgE (protilátka)
- Ejektorová buňka, tj. žírná buňka nebo bazofil

Nejčastějšími *příznaky alergických reakcí* na potraviny jsou [7,15,26]:

respirační: rýma (rinitida), astma, edém (otok) hrtanu

kožní: angioedém (zduření kůže, málo svědivé, predilekčně postihuje obličej, může však postihnout i dutinu ústní, hltan a hrtan), kopřivka (urtikárie), ekzém-atopická dermatitida (zánět kůže)

gastrointestinální (GI): břišní křeče, průjem, nauzea (nucení na zvracení), zvracení

systémové: anafylaktický šok (akutní generalizovaná alergická reakce, při které je postiženo více systémů – kardiovaskulární, respirační, kožní, gastrointestinální; reakce vzniká při expozici antigenu, na který se jedinec již dříve senzibilizoval)

Potravinové alergen dokáží vyvolat reakce neatopické i atopické [26].

Mezi *atopické choroby* patří:

- Alergická rýma
- Alergické astma
- Atopická dermatitida
- Alergická gastroenteropatie

Mezi neatopické (anafylaktické) choroby patří:

- Anafylaktický šok
- Urtikárie/angioedém

3.2 Alergické reakce na potraviny

Existuje řada typů nepříznivých reakcí na potraviny, které lze celkově označit jako „přecitlivělost na potraviny.“ Přecitlivělost na potraviny se dělí na primární a sekundární, primární přecitlivělost na potraviny dále na imunologické reakce (zahrnují imunitní systém jedince) a neimunologické reakce [26].

3.2.1 Neimunologické reakce na potraviny

Mnoho nežádoucích reakcí na potraviny zprostředkovávají mechanismy, které ne-zahrnují imunitní systém. Jedná se tedy o intoleranci, nikoliv alergii [8,27,28]. Příčinou uvedených reakcí jsou většinou toxiny přirozeně se vyskytující v potravinách, mikrobiální nebo chemické kontaminanty potravin, dále metabolické obtíže a idiosynkratické reakce [26]. Skutečnou alergii vyvolávají pouze bílkoviny a pokud dojde k alergické reakci při konzumaci aditiva, může to být pouze aditivum vyráběné extrakcí z rostlinných nebo živočišných surovin [8,29].

Potravinové idiosynkrazie (nadměrná citlivost) jsou neimunologické reakce na potraviny. Dochází k nim např. po konzumaci potravin obsahujících některá aditiva. Tato kategorie taktéž zahrnuje psychosomatická onemocnění.

Mezi aditiva, která se spojují s nežádoucími reakcemi podobnými alergii, patří i tartrazin. Jde o barvivo, které vyvolává kopřivku. Ověřuje se, zda tartrazin nemá vliv na astma a poruchy chování dětí [26].

4 CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je jedna z nejdůležitějších částí separačních metod, která využívá dělení látek mezi dvě fáze a to fází pohyblivou, tzv. mobilní (tou může být kapalina nebo plyn) a fází nepohyblivou, tzv. stacionární (tu mohou být např. částičky tuhé látky, tenká vrstva kapaliny nanesená na pevných částicích, tenký film kapaliny na vnitřní stěně kapiláry) [30].

Látky se dají chromatograficky rozdělit (úspěšně separovat), pokud se liší alespoň v některé fyzikálně-chemické veličině [31].

4.1 Rozdělení chromatografických metod

- Podle povahy fází: plynová (GSC, GLC)
kapalinová (LSC, LLC)
- Podle uspořádání fází: kolonová (sloupcová)
plošná (tenkovrstvá, papírová)
- Podle děje, který probíhá: adsorpční
rozdělovací
iontově výměnná
gelová

Chromatografickou separaci lze přibližně popsat asi takto:

Vzorek, který obsahuje dvě složky, je unášen mobilní fází kolonou, ale obě složky postupují pomaleji než mobilní fáze a složka 2 ještě pomaleji než složka 1. Během postupu kolonou každá molekula vzorku několikrát přejde z proudu mobilní fáze na povrch sorbentu a zpět. Doba, po kterou separovaný vzorek setrvává v koloně, závisí na velikosti interakcí a určuje pořadí v jakém složky vzorku vycházejí z kolony ven. Když je interakce ve stacionární fázi větší, má složka i větší retenční (eluční) čas, protože tím později vychází z kolony.

Při výstupu z kolony indikuje detektor jejich přítomnost v eluátu a zaznamená eluční pík (křivku). Pík je nejčastěji charakterizován plochou píku, výškou píku a šířkou píku v polo-
viční výšce. Tyto data pak mají přímý vztah ke koncentraci složky.

Chromatogram představuje nejčastěji grafický záznam odezvy detektoru, povětšinou zá-
vislost koncentrace eluované látky na objemu, čase nebo vzdálenosti.

Eluční objem (V_R) udává celkový objem mobilní fáze, který protekl kolonou od nástřiku
vzorku po maximum píku dané složky na chromatogramu. A eluční čas (t_R) zase dobu od
nástřiku vzorku po maximum křivky. Objemový průtok (F_m) je objem proteklé mobilní
fáze vztažený na jednu sekundu. Tyto veličiny pak spolu souvisí [30].

Kvalitativní a kvantitativní vyhodnocení

Nositelem kvalitativní informace jsou eluční parametry t_R a V_R . Nelze se však opírat o ab-
solutní hodnoty, protože jsou závislé na všech experimentálních podmínkách chromato-
grafické analýzy. Proto se při kvalitativní analýze porovnává eluční čas nebo objem neznámé
složky s elučním časem nebo objemem standardu za stejných podmínek.

Při kvantitativní analýze se vychází z toho, že plocha vymezená píkem nad základní linii je
úměrná množství (koncentraci) látky. Kvantitativní analýze předchází měření plochy píků,
které se dnes provádí výhradně digitálními generátory [30].

Z chromatogramu se odečítají především tři charakteristiky :

- Poloha píků v chromatogramu – ta vypovídá o kvalitě analytu
- Tvar píku, nejčastěji jeho šířka ve zvoleném zlomku jeho výšky – ten vypovídá o
účinnosti separace na chromatografické koloně
- Velikost píku, tj. poloha pod křivkou, nebo výškou píku za předpokladu, že pík má
symetrický tvar – ta charakterizuje kvantitativní obsah analytu ve vzorku [32].

4.2 Kapalinová chromatografie

Pro všechny metody kapalinové chromatografie je shodné, že mobilní fázi tvoří ka-
palina. Stacionární fázi představuje sorbent, který je umístěn plošně (ve vrstvě) nebo

v koloně nebo sloupci. Podle toho jsou i nazvány jednotlivé metody kapalinové chromatografie.

V plošném uspořádání jde o metody tenkovrstvé a papírové chromatografie, v kolonové chromatografii mluvíme o klasické sloupcové chromatografii a vysokoúčinné kapalinové chromatografii (HPLC).

HPLC zahrnuje metody založené na různém mechanismu separace, avšak společným znakem je použití kapalné mobilní fáze, vysokotlaké techniky a účinných kolon [30].

U kapalinové chromatografie se:

- ustavuje rovnováha mezi mobilní kapalnou fází a stacionární pevnou fází (LSC)
- ustavuje rovnováha mezi mobilní kapalnou fází a stacionární kapalnou fází (LLC)

Chromatografii v systému kapalina - tuhá látka, lze dále rozdělit např. na chromatografii na polárních absorbentech, na nepolárních absorbentech, na chemicky vázaných fázích, na chromatografii iontově výměnnou a gelovou.

Chromatografie v systému kapalina – kapalina využívá kapalnou stacionární fází, zakotvenou na inertním nosiči.

Adsorpční kapalinová chromatografie (LSC) využívá interakci mezi složkami vzorku a tuhou fází (adsorbentem) a prostředím mobilní fáze. Nejvíce používaným adsorbentem je polární adsorbent silikagel nebo Al_2O_3 . Při výběru mobilní fáze se vychází z toho, že na polárních adsorbentech roste eluční účinnost od méně polárních k polárnějším rozpouštědům. Podle rostoucí eluční účinnosti tvoří rozpouštědla eluotropickou řadu ve zkráceném zápisu: heptan, tetrachlormethan, toluen, chloroform, aceton, acetonitril, ethanol, methanol a octová kyselina [30].

Rozdělovací kapalinová chromatografie (LLC) využívá distribuce složek mezi kapalnou mobilní fází a kapalnou stacionární fází, avšak obě kapaliny nesmějí být mísitelné. Základem většiny náplní, které obsahují chemicky vázanou stacionární fází, je silikagel ve formě plně porézních částic nepravidelného tvaru nebo plně porézních kulovitých částic. Chemicky vázaná stacionární fáze na těchto nosičích se získává vytvořením vrstvičky chemicky vázaného silikonového polymeru. Součástí silikonového polymeru je vždy určitá koncová funkční skupina, která ovlivňuje vlastnosti chemicky vázané fáze. Jsou to buď skupiny

uhlovodíkové (hydrofobní), těmto fázím pak říkáme obrácené, nebo polární funkční skupiny (např. nitrilové, aminové) [30].

Podle relativní polaritý stacionární a mobilní fáze se chromatografie dělí na chromatografii v systémech s normálními fázemi, kde je stacionární fáze polárnější než fáze mobilní, a chromatografii v systémech s obrácenými fázemi, kde má mobilní fáze větší polaritu než fáze stacionární. Při chromatografii v systémech s obrácenými fázemi se používá mobilních fází, které obsahují vodu a jedno či více organických rozpouštědel mísitelných s vodou (methanol, acetonitril, 2-propanol atp.) [19].

Při chromatografickém dělení směsi látek je možné použít jedinou mobilní fázi s konstantním složením, jelikož se využívá tzv. izokratické eluce.

U složitých směsí nelze někdy pracovat jen s jedním eluentem, protože bychom mohli získat složky buď nerozdělené, nebo bychom zaznamenali dlouhé retenční (eluční) časy pomalých složek, což by znamenalo i nežádoucí prodloužení doby analýzy. Proto se tedy využívá technika tzv. gradientové eluce, kdy se využívá postupně více rozpouštědel o stoupající eluční síle, nebo se může vícestupňový růst eluční síly nahradit plynulou změnou a to tak, že se během eluce plynule mění složení mobilní fáze. Gradient mobilní fáze se může také týkat jejího pH [17].

4.2.1 Jednotlivé prvky a součásti kapalinové chromatografie

Moderní kapalinový chromatograf v základní sestavě se skládá z částí, které zajišťují transport mobilní fáze (zásobník mobilní fáze a vysokotlaké čerpadlo s čidlem pro měření tlaku), dávkování vzorku (manuální či automatické), separaci látek (chromatografická kolona), detekci, registraci signálu a vyhodnocování chromatografického záznamu (průtočný detektor, zapisovač, integrátor, případně počítač a tiskárna). Tato základní sestava se může doplnit řadou dalších prvků a doplňujících zařízení, především zařízení pro tvorbu koncentračního gradientu mobilní fáze, použití termostátované kolonové skříně, ochranných filtrů či předklony, kolon s přepínacím ventilem atd.

Čerpadla mobilní fáze

Čerpadla musí být konstruována z materiálů odolných vůči korozi i při použití poměrně agresivních mobilních fází (roztoky pufrů, slabých kyselin a bází, různá organická rozpouštědla), k čemuž se hodí nerezová ocel, titan nebo keramické materiály; těsnění se většinou

vyrábějí z plněného teflonu, kuličky a sedélka ventilů ze safíru. U čerpadel, u kterých do styku s mobilní fází přichází pouze sklo a teflon je možné používat i velmi agresivní fáze, jejich použití je však omezeno horní tlakovou hranicí 3-15 MPa. Čerpadla mají mobilní fázi plynule dávkovat bez kolísání průtoku do tlaků 30-50 MPa. V současné době se při práci s analytickými kolonami téměř výhradně používají pístová čerpadla s malým objemem pístní komory [32].

Zařízení pro dávkování vzorků

Typ zařízení pro dávkování vzorku do chromatografické kolony může významně ovlivnit výsledek separace. Při nedokonalém dávkování může docházet k významnému rozšiřování elučních zón vlivem mimokolonového příspěvku dávkovacího zařízení. Používají se buď manuální smyčkové dávkovače na principu přepínacích ventilů, nebo automatické dávkovače, které umožňují dávkovat vzorek do kolony bez přerušení toku mobilní fáze. Automatické dávkovače ve spojení se sadou speciálních skleněných mikronádobek uzavřených pryžovým septem jako zásobníčků vzorků, umístěných v pneumaticky ovládacích držácích, umožňují automaticky dávkovat mnoho vzorků po sobě i při různých pracovních podmínkách, bez zásahu obsluhy přístroje. To se používá pro sériové analýzy, kdy se zpracovává velký počet vzorků [32].

K dávkování vzorku se užívá kohout (ventil) s dávkovací smyčkou (μl), ta se naplňuje mikro-stříkačkou [30].

Chromatografické kolony a jejich náplně

Vysoká účinnost a rychlost se dosahuje použitím kolon plněných náplněmi s velmi jemnými částicemi a poměrně velkých průtoků mobilní fáze. Je ovšem nutné použít vysokotlakých čerpadel, která zajišťují konstantní průtok mobilní fáze.

Kolony pro HPLC jsou vyrobeny z materiálů, aby odolávaly vysokým tlakům (až 60 MPa) – nejčastěji borosilikátového tvrzeného skla nebo z antikorozi oceli. Jejich délka se pohybuje mezi 5 – 50 cm s vnitřním průměrem 2 – 4 mm a jsou plněny sorbety s částicemi o velikosti 3 – 10 μm [30]. Účinnost chromatografické kolony se vyjadřuje bezrozměrnou veličinou n , která se nazývá počet teoretických pater [33].

Detektory

Detektory jsou koncentračního typu, tj. poskytují (signál) odezvu úměrný koncentraci detegovaných látek v eluátu [32]. Převážně se používají detektory optické (spektrofotometrický, fluorimetrický, refraktometrický) a elektrochemické (vodivostní) [30].

UV/VIS (spektrofotometrický) detektor měří absorbanci eluátu v oblasti vlnových délek od 190 do 800 nm. a dělí se na :

- UV / VIS detektory s fixní vlnovou délkou
- UV / VIS detektory s nastavitelnou vlnovou délkou
- UV / VIS detektory s diodovým polem (PDA, DAD) - zaznamenávají celé spektrum v reálném čase bez přerušení chromatografické separace. Detektorem je pole fotodiod, jejich počet určuje spektrální rozlišení detektoru. Umožňují detekci analytu při jakékoliv zvolené vlnové délce, porovnávat spektra s knihovnou spekter, vypočítat čistotu píku [34].

PRAKTICKÁ ČÁST

CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit analýzy odebraných vzorků zmrzliny na obsah vybraných syntetických barviv při její výrobě v zařízeních společného stravování.

V rámci sledování byly hodnoceny odebrané vzorky z Olomouckého kraje v letech 2008 – 2010.

Přednostně byly odebírány vzorky zmrzliny vyrobené teplou cestou a zmrzliny intenzivně probarvené. Celkem bylo odebráno 13 anonymních vzorků.

Stanovení vybraných ukazatelů prováděl Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě.

Pro srovnání byl použit i přehled rozborů všech vzorků prováděných v roce 2010 Zdravotním ústavem se sídlem v Ostravě.

5 MATERIÁL A METODICKÝ POSTUP

Stanovení syntetických potravinářských barviv ve vzorcích zmrzliny se provádělo metodou HPLC – VIS.

5.1 Odběr vzorků, transport, skladování a příprava vzorků k analýze

Odběr vzorku se řídil vyhláškou č.211/2004 Sb., o metodách zkoušení a způsobu odběru a přípravy kontrolních vzorků, ČSN 56 0140 Metody zkoušení zmrzlin - senzoricke hodnocení všech znaků a SPP při odběru vzorků potravin a pokrmů pro pracovníky oboru hygieny výživy verze 1/06 ze dne 1.6.2006

Vzorky byly do laboratoře dodávány v originálních nebo náhradních obalech.

Na místě odběru se neprováděla žádná úprava vzorku, bylo žádoucí vzorek co nejrychleji dopravit do laboratoře.

Po celou dobu se vzorky uchovávaly při teplotě do -10 °C.

Před vlastním stanovením byly vzorky temperovány na laboratorní teplotu, homogenizovány k dalšímu zpracování.

5.2 Podstata zkoušky

Barviva se z potraviny získají vícenásobnou extrakcí fosfátovým pufrem, případně směsí voda:metanol. Jednotlivá barviva jsou separována pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie a detekována ve viditelné oblasti spektra při vlnových délkách charakteristických pro jednotlivé barevné skupiny.

5.3 Chemikálie

5.3.1 Základní chemikálie

Použilo se výhradně chemikálií zaručené analytické čistoty, destilovaná voda a dále:

- *Směsný standard všech: $c = 2,5 \mu\text{g/ml}$ (všechny standardy i s indigotinem)*

1 ml směsného standardu $50 \mu\text{g/ml}$ (standard A) + 0,1 ml indigotinu $50 \mu\text{g/ml}$ (standard B) se odpipetovalo do 10 ml odměrné baňky a doplnilo po rysku 50% methanolem; dostali jsme koncentraci $c = 0,5 \mu\text{g/ml}$ a dále se 0,5 ml takto připraveného směsného standardu odpařilo na RVO a rozpustilo v 1 ml MF. Následoval nástřik HPLC.

- *Směsný standard všech: $c = 0,25 \mu\text{g/ml}$ (všechny standardy i s indigotinem)*

0,1 ml směsného standardu o $c = 50 \mu\text{g/ml}$ (standard A) + 0,1 ml indigotinu o $c = 50 \mu\text{g/ml}$ (standard B) se odpipetovalo do 10 ml odměrné baňky a doplnilo po rysku 50% methanolem; dostali jsme koncentraci $c = 0,5 \mu\text{g/ml}$ a dále se 0,5 ml takto připraveného směsného standardu odpařilo na RVO a rozpustilo v 1 ml MF. Následoval nástřik HPLC.

Koncentrační úroveň kalibračního standardu byla volena podle předpokládané koncentrace jednotlivých barviv ve vzorku.

Roztoky byly uchovávány v lednici, zásobní roztok je stálý asi 3 měsíce (kromě indigotinu, který se připravoval vždy čerstvý), pracovní standardy 1 týden.

5.3.4 Bezpečnostní opatření

Pro zkoušku byly použity nebezpečné chemické látky a chemické prostředky. Způsob nakládání s těmito látkami a prostředky se řídí bezpečnostními listy.

Podle této metody se pracovalo s látkou vysoce hořlavou a toxickou (acetonitril), a bylo proto nutné respektovat platné bezpečnostní předpisy.

Bezpečnost práce se řídila dle ČSN 01 8003 Zásady pro bezpečnou práci v chemických laboratořích.

5.4 Přístroje a pomůcky

- Kapalinový chromatograf s termostatovou kolonou typu C 18 a DA detektorem.

Dále se pro zkoušku použilo obvyklé laboratorní vybavení:

- Odměrné laboratorní sklo

- Předvážky s citlivostí 0,01 g
- Váhy s citlivostí 0,01 mg
- Ultrazvuková lázeň
- Mikrofiltry, mikrostříkačky Hamilton pro HPLC

Veškeré použité sklo se mylo běžným způsobem.

5.5 Kalibrace

Kalibrace byla prováděna s každou sérií vzorků metodou přímé kalibrace. Koncentrace v neznámém vzorku byla vypočtena metodou přímého srovnání s kalibračním vzorkem, přičemž koncentrace v kalibračním vzorku se volila co nejbližší očekávané koncentraci v neznámém vzorku. Pokud koncentrace v neznámém vzorku kolísala, volilo se více úrovní. Kalibrační vzorky se analyzovaly společně s neznámými vzorky.

5.6 Postup zkoušky

5.6.1 Zpracování vzorků

5 g vzorku zmrzliny se sonifikovalo (několikanásobná extrakce na ultrazvuku) s 20 ml 50% methanolu, po sonifikaci se přidal 1 ml roztoku Cares I + 1 ml roztoku Cares II (na vysrážení bílkoviny) a nechalo 30 minut stát. Vzorek se odstředil (nelze filtrovat – barviva se zachycují na filtru), slil a dále se 2x sonifikoval s 10 ml 50% methanolu. Po té se slil do 50 ml odměrných baněk a doplnil do objemu 50% methanolem. V případě potřeby se vzorek nechal odsadit v lednici cca 1 hod. Nakonec se 0,5 ml vzorku (v 50% methanolu) odpařilo na RVO, rozpustilo v 1 ml MF a předalo k analýze na HPLC.

Stejným způsobem se připravil i tzv. přídavek na retenční časy – 0,5 ml odpařeného vzorku se rozpustilo v 1 ml MF a přidalo se 20 μ l směsného standardu o $c = 50 \mu\text{g/ml}$ (standard A) + 1 μ l indigotinu o $c = 1 \text{ mg/ml}$ (základní individuální roztok indigotinu) – nástřík HPLC: 50 μ l.

Jako referenčního materiálu bylo použito 5g nanukového dortu, který se zpracoval stejným způsobem jako vzorky.

Referenční materiál – nanukový dort s přídavkem: 5 g naukového dortu s přídavkem 3 ml směsného standardu o $c = 50 \mu\text{g/ml}$ (standard A) + 3 ml indigotinu o $c = 50 \mu\text{g/ml}$ (standard B) se zpracoval stejným postupem jako vzorky (přídavek se dal ke vzorku a až potom zalil 50% methanolem).

5.6.2 Chromatografické stanovení

Po zapnutí měřicího systému (degasser, pumpa, autosampler, termostat, detektor DAD) se nechala protékat mobilní fáze až do ustálení podmínek. Autotest provedl přístroj sám. Nastavila se metoda, která obsahovala veškeré analytické podmínky.

5.7 Výpočet a vyjádření výsledků

5.7.1 Výpočetní schéma

K výpočtu výsledků se využilo software analytického přístroje.

$$x_z = y_z * x_k / y_k \qquad x_0 = y_0 * x_k / y_k \qquad x = (x_z - x_0) * R^{-1}$$

x_kdeklarovaná koncentrace hledané složky v K (kalibračním vzorku) blížící se nejvíce koncentraci x_k

y_kprůměr naměřených hodnot hledané složky v K o koncentraci x_k

x_0vypočtená koncentrace hledané složky v O (slepém vzorku)

y_0průměr naměřených hodnot hledané složky v O

x_zvypočtená koncentrace hledané složky v Z (neznámém vzorku)

y_zprůměr naměřených hodnot hledané složky v Z

R.....recovery (výtěžnost)

x.....výsledek analýzy

5.7.2 Zaokrouhlování

Výsledky analýz se zaokrouhlovaly na 2 platné číslice s nulou za desetinnou čárkou, maximálně na 2 desetinná místa. Výsledky se uvedly v mg/kg vzorku. Nejistota výsledku je udávána v %.

5.7.3 Zajištění kvality

Systém vnitřní kontroly laboratoře zahrnoval pravidelné sledování a vyhodnocování přesnosti a správnosti dat.

- slepé stanovení s každou sérií vzorků
- pracovní kalibrační standard v každé sérii vzorků – vícebodová kalibrace
- standardní přídavek referenčního materiálu ke vzorku v každé druhé sérii vzorků, výpočet výtěžnosti
- dle povahy a počtu vzorků byly prováděny duplicitní analýzy vzorků

5.7.4 Meze detekce a nejistoty výsledků

Meze detekce pro každou látku 1 mg/kg až 10 g/kg, podle druhu potraviny.

Tab. 1: *Nejistoty výsledků [SOP OV 343.02]*

analyt	Nejistota výsledku %
Tartrazin	25
Chinol. žluť	25
Žluť SY	30
Azorubin	25
Amarant	30
Ponceau 4R	30
Erythrosin	25
Patentní modř	30
Indigotin	30
Brolant. modř	30
Čerň BN	25
Allura AC	30

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Výsledky odběrů vzorků

Na základě stanovených cílů, materiálu a metodického postupu jsme dospěli k následujícím zjištěním.

V tab. 2 jsou uvedeny průměrné obsahy syntetických barviv odebraných vzorků zmrzliny v letech 2008 – 2010.

Získané výsledky byly hodnoceny dle vyhlášky č. 4/2008 Sb. [11].

V § 6 vyhlášky č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin s odkazem na přílohu č. 4 se stanoví barviva povolená při výrobě potravin, potraviny a skupiny potravin, v nichž se barviva mohou vyskytovat a další podmínky použití barviv. Syntetická barviva smějí být používána k výrobě potravin jednotlivě či v kombinaci až do nejvyššího povoleného množství (NPM).

NPM pro zmrzliny a mražené krémy je stanoveno 150 mg/l resp. mg/kg hotového výrobku. NPM se týká celkového množství všech použitých syntetických barviv.

Barvivo žluť SY E 110, azorubin E 122, ponceau 4R E 124 a hněd' HT E 155 pokud je přidáváno do zmrzlin a mražených krémů jednotlivě nebo v kombinaci, nesmí obsah jednotlivého barviva být vyšší než 50 mg/kg nebo 50 mg/l hotového výrobku a zároveň celkový obsah barviv nesmí překročit NPM.

Seznam barviv, která lze použít při výrobě mražených krémů, zmrzliny:

- E 100 Kurkumin
- E 102 Tartrazin
- E 104 Chinolinová žluť
- E 110 Žluť SY
- E 120 Košenila, kyselina karmínová, karmíny
- E 122 Azorubin
- E 124 Ponceau 4R
- E 129 Červeň Allura AC
- E 131 Patentní modř V
- E 132 Indigotin

- E 133 Brilantní modř
- E 142 Zeleň S
- E 151 Čerň BN
- E 155 hněd' HT
- E 160 d Lykopen
- E 160 e beta – apo - 8' - karotenal
- E 160 f Ethylester kyseliny beta – apo 8' - karotenové
- E 161 b Lutein

Tab. 2: Průměrný obsah syntetických barviv v odebraných vzorcích zmrzliny v letech 2008 – 2010 (mg.kg⁻¹)

ukazatel	Číslo vzorku												
	mg/kg ⁻¹												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Amarant (E 123)	90,6	-	-	-	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Azorubin (E 122)	< 5,0	-	-	66,5	< 5,0	< 5,0	< 5,0	42,7	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Břilantní modř (E 133)	< 5,0	-	-	-	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	-	< 5,0
Břilantní černá BN (E 151)	-	-	-	-	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0
Červená Alura AC (E 129)	< 5,0	146	106	-	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Erythrozín (E 127)	-	-	-	-	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0	< 10,0
Chinolinová žlutá (E 104)	< 5,0	-	-	-	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Indigotin (E 132)	41,2	-	-	-	< 5,0	127	< 5,0	13,7	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Patentní modř V (E131)	< 5,0	-	-	-	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Patentní modř V (E 131)	< 5,0	-	-	-	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0
Ponceau 4R (E 124)	< 5,0	-	-	74,8	< 5,0	< 5,0	< 5,0	5,4	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	146
Tartrazin (E 102)	< 5,0	-	-	-	21	< 5,0	105	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	147
Žlutá SY (E 110)	< 5,0	-	-	-	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0	< 5,0

< = hodnoty takto označené nebyly detekovány

(Rozdílné meze detekce vycházejí z validační metody - detekovatelnosti analytu danou metodou.)

Legenda:

číslo	Název	číslo	Název	číslo	Název
1	Zmrzlina Borůvka	2	Granátové jablko	3	Melounová zmrzlina
4	Višňová zmrzlina	5	Žvýkačka bublé	6	Zmrzlina Šmoula
7	Banánová zmrzlina	8	Borůvková zmrzlina	9	Zmrzlina Čokoláda
10	Karamelová zmrzlina	11	Smetanová zmrzlina	12	Čokoládová zmrzlina
13	Jahodová zmrzlina				

Z výsledků uvedených v tabulce č. 2 vyplývá, že při odběru nevyhověly 3 vzorky:

Vzorek č.1 – Zmrzlina Borůvka, byla zde zjištěna přítomnost barviva Amarant, které není pro barvení zmrzliny povoleno.

Vzorek č.4 – Višňová zmrzlina, kde byla překročena hodnota maximálního množství (50 mg/kg) jednotlivého barviva a to u barviva Azorubin (E 122) a barviva Ponceau 4R (E 124).

Vzorek č.13 – Jahodová zmrzlina, zde bylo překročeno NPM 150 mg/kg (celkové množství všech použitých syntetických barviv) a současně byla překročena hodnota 50 mg/kg pro obsah jednotlivého barviva a to u barviva Ponceau 4R (E 124).

Za tyto nevyhovující nálezy bylo s provozovateli stravovacích zařízení zahájeno správní řízení, ve kterém byly uloženy sankce.

6.2 Diskuze

Pro srovnání jsou v příloze PI a PII uvedeny všechny rozborů vzorků zmrzliny, které prováděl ZÚ se sídlem v Ostravě v roce 2010. Z té jsou patrné tyto výsledky:

Ve dvou případech byly překročeny hodnoty stanovené vyhláškou. V jednom případě pro použití barviva (Amarant), které není pro barvení zmrzliny povoleno (jedná se o vzorek, který je uveden v kapitole výsledky), v druhém případě jde o překročení nejvyššího povoleného množství celkových barviv (150 mg/kg) a současně překročení hodnot obsahu jednotlivého barviva (50 mg/kg).

Z výsledků vyplývá, že syntetická barviva jsou při výrobě zmrzliny použita, avšak většinou v povoleném množství. Porušení není tak časté, ale je nutno danou problematiku dále sledovat.

Kontrolu dodržování předpisů pro používání přídatných látek zajišťují, pokud jde o potraviny, dozorové orgány Ministerstva zemědělství ČR, tj. Státní zemědělská a potravinářská inspekce a Státní veterinární správa, u pokrmů pak orgány ochrany veřejného zdraví řízené Ministerstvem zdravotnictví ČR.

Ohledně vhodnosti používání syntetických (nepřirozených) látek při výrobě potravin se setkáváme zcela s protichůdnými názory. Někteří jsou zastánci užívání těchto nových látek, jiné osoby směřují ke zdravému životnímu stylu a mají zcela opačný názor.

Jsou sice prováděny toxikologické testy na zvířatech, avšak např. hlodavci mají zcela jiné požadavky na stravu než člověk. I mezidruhové (biologické) rozdíly způsobují to, že interpretace výsledků je velmi složitá a v některých případech i selhala. Vylučování cizorodých látek je u pokusných zvířat mnohem rychlejší, než je tomu u lidí. Laboratorní pokus je prováděn pouze určitou omezenou dobu, na rozdíl od běžného příjmu přídatných látek během lidského života. U zvířat také nelze prokázat nepříjemné stavy, psychické rozladění a nervozitu [35].

Hodnotitel Syrový bodově hodnotí vhodnost či nevhodnost užívaných přídatných látek stupnicí od jedné do pěti. Číslem 1. označil přídatné látky, které působí převážně příznivě, jsou to látky buďto přirozeného původu a získávané z přírodních zdrojů, či vyrobené vhodným postupem tak, že jejich chemická struktura je s nimi identická. Číslem 2. označil látky, které považuje z hlediska užívání za méně vhodné, než sloučeniny zařazené do předchozí skupiny, ale přesto ještě převážně přijatelné. Číslem 3. označil sloučeniny, které jsou již méně vhodné, ale pro zdraví jedince jsou v omezené míře ještě přijatelné. Číslem 4. označil látky, které jsou již vzhledem ke svému možnému dopadu na náš organismus nevhodné, a u nichž lze očekávat nepříznivé působení. Číslem 5. označil přídatné látky, kterým bychom se měli skutečně zásadně vyhnout, protože mají vzhledem ke svému původu a chemické struktuře výrazně nepříznivý účinek. Potom by podle jeho hodnocení a názoru barviva, která jsou povolena při výrobě zmrzliny byla většinou ohodnocena známkou 5, známku 1. by dostala pouze barviva: E 100 Kurkumin, E 160 d Lykopen, E 160 e beta-apo-8'-karotenal, E 161 b Lutein, známku 3. by dostalo barvivo E 160 f Ethylester kyseliny beta-apo-8'-karotenové a známku 4. barvivo E 120 Košenila, kyselina karmínová, karmíny [35].

Existuje studie (studie McCanna *et al.*) o vlivu některých barviv a benzoanu sodného na chování dětí. V této studii se uvádí, že konzumace šesti syntetických potravinářských barviv a benzoanu sodného jako konzervační látky v potravinách má za následek zvýšenou hyperaktivitu u tří-letých dětí a dětí ve věkové skupině 8-9 let. Tato studie navazovala na některé předchozí studie, které také poukázaly na možnou souvislost poruch chování u dětí v souvislosti s některými syntetickými barvivy. Ve studii byly zkoumány účinky synte-

tických barviv tartrazinu, chinolinové žluti, žluti SY, ponceau 4R, allurové červeně, azorubinu a benzoanu sodného na chování dětí [36].

Zkoumaná barviva se velmi často užívají v cukrovinkách, v nealkoholických nápojích, ve zmrzlinách a jsou ve velké míře konzumována právě dětmi. Barvené nealkoholické nápoje jsou mezi dětmi velmi populární právě pro jejich barevnost.

Jelikož tato studie vzbudila zvýšenou pozornost, byl požádán Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) o stanovisko k této studii. EFSA zkoumal i další studie podobného charakteru a konstatoval, že neexistuje jednoznačný a prokazatelný důkaz o tom, že by dvě zkoumané směsi přídatných látek vykazovaly statisticky významný účinek na chování dětí. Celá studie obsahuje značné nejistoty. Získané výsledky nejsou statisticky průkazné, ikdyž se nepopírá případná zvýšená citlivost jedinců na potravinářská barviva nebo obecně na potravinářské přídatné látky. Vzhledem k předběžné opatrnosti byla v souladu s Nařízením EP a rady č.1333/2008 od 20. července 2010 stanovena povinnost uvádět u kódu nebo názvu těchto barviv uvedenou informaci, že: „Mohou nepříznivě ovlivnit činnost a pozornost dětí“. K případnému zákazu používání těchto látek může dojít až po jednoznačném prokázání jejich negativního dopadu na zdraví spotřebitele. Jsou prováděny další studie, které se věnuje zvýšená pozornost [17,36].

Jiný zdroj uvádí, že vliv aditiv na chování dětí je oblastí zájmu veřejnosti a poskytovatelů zdravotní péče. Navrhují se kontrolované studie v této oblasti, které však jsou rozporuplné a všeobecně nedostatečné. Všeobecně se uznává existence skřížené hyperreaktivity mezi tartrazinem a kyselinou acetylsalicylovou. Zprávy však nejsou nerozporné. Jednorázový expoziční test s perorálním tartrazinem s dávkou až do 50 mg u 194 pacientů s astmatem a přecitlivělostí na kyselinu acetylsalicylovou vyvolal záchvat u sedmi pacientů. Avšak opakované dvojitě zaslepené testy byli u šesti z nich negativní [37].

Na působení syntetických barev u hyperaktivních dětí dosud není konečná vědecká odpověď. Pro osoby, které chtějí barviva ze své potravy vyloučit, je výhodou, že tyto látky jsou uvedeny na obalech v seznamu aditiv.

O vlivu stravy na hyperaktivitu dětí je přesvědčena značná část rodičů a někdy i učitelů, zřejmě proto, že jsou s dětmi v úzkém kontaktu a mohou pozorovat změny v chování po příjmu některých potravin, což lékaři nemohou podchytit. Objasnění negativních vlivů složek potravy na chování dětí bude vyžadovat další studium [38].

EFSA také poskytlo stanovisko, v návaznosti na žádost Evropské komise o vhodnosti zařazení potravinových barviv tartrazin (E 102), žluť FCF (E 110), carmoisine (azorubin - E 122), amarant (E 123), ponceau 4R (E 124), červeň Allura AC (E 129), čern BN (E 151), hněd FK (E 154), hněd HT (E 155) a litholrubin BK (E 180) do seznamu složek potravin uvedených v příloze směrnice 2000/13/ES, zaměřené na schopnost jednotlivých barviv, nebo jejich kombinace, vyvolat u lidí intoleranční nebo alergickou reakci po orální expozici. Bylo hlášeno jen několik případů nesnášenlivé reakce u citlivých osob na tartrazin a ponceau 4R, a v menší míře také na žluť FCF a amarant. Tyto reakce byly podobné kopřivce, angioedému (otok vznikající na různých místech organismu podkoží obličeje, sliznice dýchacího a trávicího ústrojí), dušnosti a leukoklastické vaskulitidy (zánětlivé onemocnění cév, zejm. tepen). O citlivosti na hněd HT, litholrubin BK, čern BN, carmoisin a červeň allura AC nejsou k dispozici žádné údaje. Pokud jde o směsi barviv, včetně azobarviva, nahlášeno bylo pouze několik případů intolerančních reakcí. Tyto reakce se projevily kopřivkou, periorbitálním edémem (otok v okolí očníce), zarudnutím obličeje, a také vyšším výskytem hyperaktivity u dětí. Závěrem tedy EFSA shledala, že je nepravděpodobné, že by orální konzumace těchto potravinářských barviv jednotlivě, či jejich kombinace, vyvolala závažné nežádoucí reakce organismu při jejich běžné spotřebě[39].

ZÁVĚR

Na základě stanovených cílů, materiálu a metodického postupu jsme dospěli k následujícím závěrům:

- Bylo odebráno a analyzováno 13 nahodile odebraných vzorků zmrzliny.
- Ve vzorcích byly stanoveny obsahy vybraných syntetických barviv.
- Vyhlášce č. 4/2008 Sb, kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin nevyhověly 3 vzorky:

Vzorek 1 – Zmrzlina Borůvka, byla zde zjištěna přítomnost barviva Amarant a to v množství 90,6 mg/kg. Barvivo Amarant není pro barvení zmrzliny povoleno.

Vzorek č.4 – Višňová zmrzlina, kde byla překročena hodnota maximálního množství (50 mg/kg) jednotlivého barviva a to u barviva Azorubin (E 122), stanovené množství 66,5 mg/kg a barviva Ponceau 4R (E 124), stanovené množství 74,8 mg/kg.

Vzorek č.13 – Jahodová zmrzlina, zde bylo překročeno NPM 150 mg/kg (celkové množství všech použitých syntetických barviv), stanoveno bylo 293 mg/kg a současně byla překročena hodnota 50 mg/kg pro obsah jednotlivého barviva a to u Ponceau 4R (E 124), stanovené množství 146 mg/kg.

Zmrzlina je velmi oblíbenou potravinou, hlavně u dětských zákazníků. Její výroba a prodej patří do činnosti epidemiologicky závažné a tak je nutné nadále provádět kontroly výrobců a prodejců zmrzliny a odebírat vzorky. V dnešní době se již už nejedná pouze o sezónní záležitost, zmrzlina se prodává celoročně, vyjma stánkových a pultových prodejců. Na ty je také třeba zaměřit pozornost, jelikož někdy nemají dostatečné hygienické zázemí pro tuto činnost. Často se také jedná o cizí státní příslušníky, kteří mají své výrobní postupy i své vstupní suroviny, nad kterými je nutné provádět dohled. Jelikož stále nejsou ukončené studie ohledně potvrzení či vyvrácení nežádoucích reakcí při použití syntetických barviv, je na místě zůstat nadále ostražití při výběru a konzumaci této pochoutky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ODSTRČIL, J., ODSTRČILOVÁ, M.: *Chemie potravin*, 1.vyd. Brno: NCO NZO, 2006. 157 s. ISBN 80-7013-435-6
- [2] KADLEC, P. a kol.: *Co byste měli vědět o výrobě potravin?* 1.vyd. Ostrava-Přívoz: KEY Publishing s.r.o., 2009. 89,90,247-249 s. ISBN 978-80-7418-051-4
- [3] KOMPRDA, T.: *Toxikologie potravin*, Cyklus přednášek, ISBN 978-80-7375-401-3, Výroba: Audiovizuální centrum Mendlovy univerzity v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ČR
- [4] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 3*, 1.vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 186 s. ISBN 80-902391-5-3
- [5] KLESCHT, V., HRNČÍŘOVÁ, I., MANDELOVÁ, L.: *Éčka v potravinách*, vyd. Brno: COMPUTER PRESS, 2006. 11,12,14,20,22,23,45,46,61,62,70,73 s. ISBN 80-251-1292-6
- [6] PERLÍN, C.: *Je hrozba z „éček“ reálná?* Výživa a potraviny, vydáno 15.7.2009 Praha: VÝŽIVA SERVIS s.r.o., 1 x za 2 měsíce, s. 58-60. ISSN 1211-846X
- [7] KOMPRDA, T.: *Výživou ke zdraví*, 1. vyd. Velké Bílovice: TeMi CZ, s.r.o., 2009. 76 a 82 s. ISBN 978-80-87156-41-4
- [8] KUČERA, J.: *Potravinářská aditiva – prospěšný pomocník nebo „nebezpečná chemie“?* Výživa a potraviny, ročník 65, leden, únor 2010, Praha: VÝŽIVA SERVIS s.r.o., 1 x za 2 měsíce, 6-9 s. ISSN 1211-846X
- [9] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin II.*, 3.vyd. Tábor: OSSIS, 2009. 186 s. ISBN 80-902391-5-3
- [10] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, Úřední věstník Evropské unie, L 354/16, 31.12.2008
- [11] Vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin. Sbírka zákonů, 2008, č.3, 258-340 s.

- [12] Vyhláška 54/2002 Sb., kterou se stanoví zdravotní požadavky na identitu a čistotu přídatných látek, Sbírka zákonů, č.23, 986-1376 s.
- [13] PIPEKOVÁ, J. (ed): *Kapitoly ze speciální pedagogiky*, 2.vyd. Brno: PAIDO, 2006. 150-152 s. ISBN 80-7315-120-0
- [14] ŠLAMPOVÁ, Andrea. a kol.: *Stanovení syntetických barviv v potravinách separačními metodami*. Chem. Listy 95, 163 168 (2001). Dostupné z WWW:
<<http://www.chemicke listy.cz/docs/full/archiv/2001/03-PDF/163-168.pdf>>
- [15] DROBNÍK, J., ŠPIČÁK, V.: *Víme, co jíme?* Praha: ÚZPI 2002. 6-9 s. ISBN 80-7271-114-8
- [16] VRBOVÁ, T.: *Průvodce – „Éčka“ v potravinách*, Praha: SOS, 2007. 4-9 s. ISBN 978-80254-1332-6
- [17] VÍT, M.: Stanovisko k potravinářským barvivům povinně označovaných doplňujícími informací, v Praze, 22.července 2010. dostupné z WWW:
<<http://www.vyzivadeti.cz/novinky-aktuality/stanovisko-k-potravinarskym-barvivum-povinne-oznacovanych-doplnujicich-informaci/>>
- [18] BABIČKA, L.: *Tanec kolem „Éček“*, Moderní obchod, vydáno 11.1.2010 Praha: ČON, spol. s r.o.,11 x ročně (12 čísel), 26 s. ISSN 1210-4094
- [19] HAMR, K., STEJSKALOVÁ, J., KADLEC, F.: *Receptury pro cukrářskou výrobu*, 1.vyd. Praha: IDEA SERVIS, 1996. 5, 6, 27-29 s. ISBN 80-85970-082
- [20] Hoffmannová, F.: *Zmrzlina*, Bratislava: FORTUNA PRINT, 1992. 6 s. ISBN 80-85224-97-6
- [21] BABIČKA, L.: *Sen o smetanové zmrzlině*, Moderní obchod, vydáno 9.4.2010 Praha: ČON, spol. s r.o.,11 x ročně (12 čísel), 32-33 s. ISSN 1210-4094
- [22] KADLEC, P. a kol.: *Technologie potravin II*, 1.vyd. Praha: VŠCHT, 2007. 33-36 s. ISBN 80-7080-510-2
- [23] HRABĚ, J. a kol.: *Technologie výroby potravin živočišného původu*, 1.vyd. Zlín: UTB ve Zlíně, 2007. 25-27 s. ISBN 978-80-7318-521-3
- [24] HRUBÝ, J.: *Technologie a technika výroby zmrazených potravin*, Praha. SNTL, 1986. 274-281 s.

- [25] FUCHS, M.: *Alergie číhá v jídle a pítí*, 2.vyd. Plzeň: ADÉLA, 2007. 7, 230, 231 s. ISBN 80-902532-2-9
- [26] KVASNIČKOVÁ, A.: *Alergie z potravin*, 1.vyd. Praha: ÚZPI, 1998. 5, 11-14 s. ISBN 80-85120-93-3
- [27] BRAUNOVÁ, J.: *Úskalí potravinové alergie v praxi*, *Medicína pro praxi* 2007/5, dostupné z WWW:
<<http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2007/05/07.pdf>>
- [28] KUDLOVÁ, E. a kol.: *Hygienu výživy a nutriční epidemiologie*, 1. vyd., Praha: KAROLINUM, 2009. 13,14,276-279 s. ISBN 978-80-246-1735-0
- [29] BRAUNOVÁ, J.: *Potravinová alergie*, *Interní medicína pro praxi* 2001/12, dostupné z WWW: <<http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2001/12/04.pdf>>
- [30] JANČÁŘOVÁ, I., JANČÁŘ, L.: *Analytická chemie*, 1.vyd. Brno: MZLU, 2003. 145, 151-154, 156, 157 s. ISBN 80-7157-647-6
- [31] CHURÁČEK, J.: *Separace látek*, 1.vyd. Pardubice: VŠCHT, 1981, 12 s. č. publikace 450-33202
- [32] CHURÁČEK, J. a kol.: *Nové trendy v teorii a instrumentaci vybraných analytických metod*, 1.vyd. Praha: ACADEMIA, 1993. 192 s. 80-200-0010-0
- [33] HOLZBECHER, Z., CHURÁČEK, J. a kol.: *Analytická chemie*, 1.vyd. Praha: SNTL, 1987. 427 s.
- [34] CVAČKA, J.: *Detekce ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii*, MC230P14 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie, 2010/2011, dostupné z WWW:
<<http://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc3.pdf>>
- [35] SYROVÝ, V.: *Tajemství výrobců potravin*, 4.vyd., Praha.2007. 9, 13, 22-25, 77-88 s. ISBN80-903137-9-5
- [36] EFSA updates safety advice on six food colours EFSA in focus–Food, ISSUE 06 ISSUE 06 APRIL 2010. dostupné z WWW:
<http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova3/EFSA_Food_6.pdf>

- [37] RANDHAWA, S., BAHNA, S.L.: *Hypersenzitivne reakcie na potravinové aditíva*, *Curr Opin Allergy Clin Immunol/CS* 2009;6:58-63, dostupné z WWW: <<http://www.prolekare.cz/pdf?id=30740>>
- [38] *Hyperaktivita a syntetická potravinářská barviva*, POTRAVINY DNEŠKA 03/2007, dostupné z WWW: <<http://www.eufic.org/article/cs/nutrition/food-labelling-claims/artid/hyperactivity-artificial-food-colours/>>
- [39] *Scientific Opinion on the appropriateness of the food azo-colours Tartrazine (E 102), Sunset Yellow FCF (E 110), Carmoisine (E 122), Amaranth (E 123), Ponceau 4R (E 124), Allura Red AC (E 129), Brilliant Black BN (E 151), Brown FK (E 154), Brown HT (E 155) and Litholrubine BK (E 180) for inclusion in the list of food ingredients set up in Annex IIIa of Directive 2000/13/EC*
EFSA Journal 2010;8(10):1778 [11 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1778. Dostupné z WWW::<<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1778.pdf>>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ADI	Accetable Daily Intake (akceptovatelný denní příjem)
Al ₂ O ₃	Oxid hlinitý
c	koncentrace
°C	Jednotka teploty - Stupeň Celsia
CE	Kapilární elektroforéza
CH ₃ CN	Acetonitril
ČON	České a slovenské odborné nakladatelství
ČR	Česká republika
ČSN	Česká technická norma
DAD	Detektor diodového pole
EU	Evropská unie
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
g	Jednotka hmotnosti – gram
g/l	1 gram na 1 mililitr
GLC	Plynová rozdělovací chromatografie
GSC	Plynová adsorpční chromatografie
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPLC-VIS	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie ve viditelné oblasti
IgE	Protilátky – Imunoglobuliny E
kol.	kolektiv
LLC	Kapalinová rozdělovací chromatografie
LSC	Kapalinová adsorpční chromatografie
LT	Leukotrieny
M	Molární

mm	Jednotka délky - milimetr
mg/ml	1 miligram na jeden mililitr
MF	mobilní fáze
MPa	Jednotka tlaku – megapascal
MZ	Ministerstvo zdravotnictví
MZe	Ministerstvo zemědělství
MZLU	Mendelova zemědělská a lesnická univerzita
NCO NZO	Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (neúčinná koncentrace toxické látky)
NPM	nejvyšší povolené množství
PG	Prostaglandiny
pH	Záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů
RASFF	Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva
RVO	rotační vakuová odparka
s.	strana
Sb.	Sbírky
SOP	Standardní operační postup
SPP	Standardní pracovní postup
s.r.o.	společnost s ručením omezeným
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
SZÚ	Státní zdravotní ústav
UTB	Univerzita Tomáše Bati
UV	Ultrafialové záření
ÚZPI	Ústav zemědělských a potravinářských informací
VŠCHT	Vysoká škola chemicko technologická

vyd.	vydání
§	paragraf
%	Objemová procenta
μm	mikrometr
μl	mikrolitr
μg/ml	1 mikrogram na 1 mililitr

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Nejistoty výsledků.....	50
Tab. 2. Průměrný obsah syntetických barviv v odebraných vzorcích zmrzliny v letech 2008 – 2010 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$).....	53

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha PI Přehled rozborů vzorků zmrzliny provedené v roce 2010 ZÚ se sídlem v Ostravě.
- Příloha PII Přehled rozborů vzorků zmrzliny provedené v roce 2010 ZÚ se sídlem v Ostravě (pokračování).
- Příloha PIII Příklad chromatogramu - stanovení červených barviv.

Příloha PI: Přehled rozborů vzorků zmrzliny provedené v roce 2010 ZÚ se sídlem v Ostravě.

Název vzorku	mg/kg									
	Amarant (E123)	Azorubin (E122)	Brilantní modř (E133)	Červeň Alhura AC (E129)	Chinolinová žluť (E104)	Indigoitin (E132)	Patentní modř V (E131)	Ponceau 4R (E124)	Tartrazin (E102)	Žluť SY (E110)
Kopečková borůvka- zmrzlina - 2b	<5	80,9	<5	<5	<5	123	<5	<5	17,9	18,8
Točená jahodová zmrzlina - 1b	<5	15,3	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	5,3
Zmrzlina punčová - 6a,6b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	27,7	11	<5
Zmrzlina ananasová - 5a,5b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	33,7	<5
Pomerančová točená zmrzlina - 3a,3b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	31
Vanilková točená zmrzlina - 4a,4b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	9,7	<5
Vanilková točená zmrzlina - 2a,2b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	20,8	<5
Jahodová točená zmrzlina - 1a,1b	<5	27,5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	5,9
Zmrzlina jogurtová - 4	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina pistácie - 3	<5	<5	<5	<5	<5	22,7	<5	<5	46,7	<5
Zmrzlina limetka - 2	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	57,5	<5
Zmrzlina banánová - 1	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina borůvka - 1	90,6	<5	<5	<5	<5	41,2	<5	<5	<5	<5
Kopečková pistáciiová zmrzlina - 3b	<5	<5	<5	<5	7,1	<5	<5	<5	21,1	<5

Příloha PII: Přehled rozborů vzorků zmrzliny provedené v roce 2010 ZÚ se sídlem v Ostravě (pokračování).

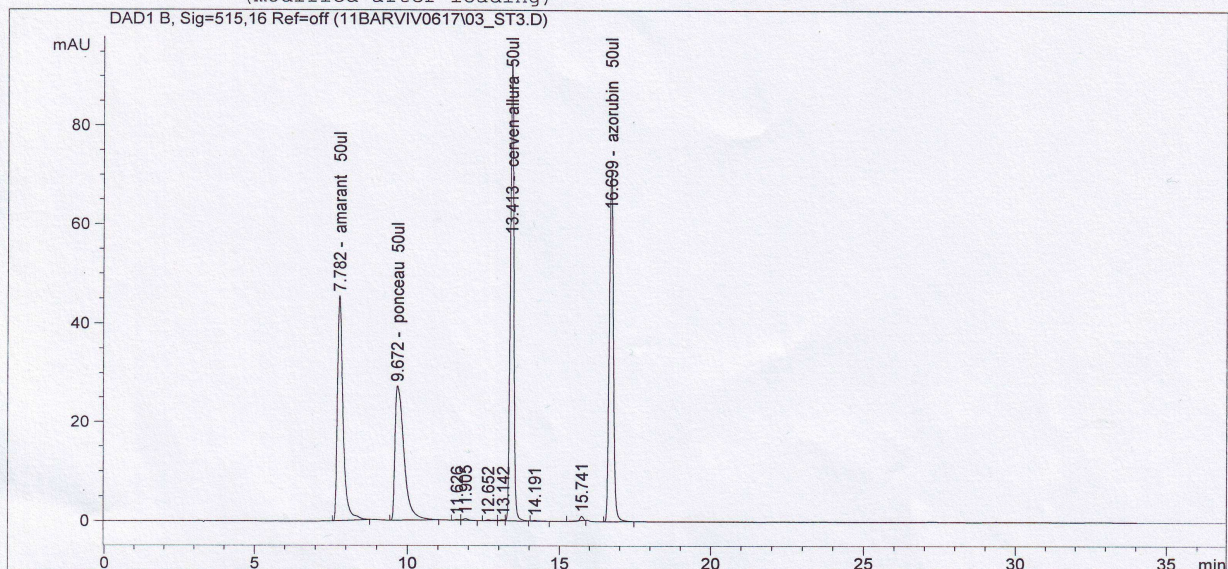
Název vzorku	mg/kg									
	Amarant (E123)	Azorbun (E122)	Břilantní modř (E133)	Červeně Allura AC (E129)	Chlolinová žlut (E104)	Indigotin (E132)	Patentní modř V (E131)	Ponceau 4R (E124)	Tartrazin (E102)	Žlut SY (E110)
Jahodová zmrzlina - 1	<5	11,9	<5	<5	<5	<5	<5	45	<5	<5
Pistáciová zmrzlina - 4	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	13	<5
Jahodová zmrzlina 3	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina červený meloun - 2	<5	22,9	<5	<5	<5	<5	<5	65,1	<5	<5
Šmoula zmrzlina - 1	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina vanilková - 4	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	80,6	<5
Zmrzlina jahodová - 3	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina černý rybíz - 2	<5	<5	<5	8,6	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina vanilková - 1	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	12,3	<5
Zmrzlina smetanová - 3b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina čokoládová - 4b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina citrónová - 2b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zmrzlina vanilková - 1b	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	18,5	<5
Kopečková pomeranč zmrzlina - 4b	<5	44,1	<5	<5	<5	<5	<5	<5	74	10,4

Příloha III: Příklad chromatogramu -stanovení červených barviv.

ata File C:\CHEM32\1\DATA\11BARVIV0617\03_ST3.D
 Sample Name: st3

```
=====
Acq. Operator   : MH                               Seq. Line :    3
Acq. Instrument : Instrument 1                     Location  : Vial 3
Injection Date  : 1/17/2011 3:42:21 PM           Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 50 µl

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\11 METODY ON LINE\AD9802K.M
Last changed    : 7/22/2010 10:44:13 AM by MH
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\11 BARVIV\CERVENE4AN110117CIISTY_50UL.M
Last changed    : 4/19/2011 10:00:33 AM by HH
                (modified after loading)
=====
```



External Standard Report

```
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 4/19/2011 10:00:19 AM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

Signal 1: DAD1 B, Sig=515,16 Ref=off

RetTime [min]	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [ug/ml]	Grp	Name
7.782	VB	584.31360	8.57752e-3	5.01196		amarant 50ul
9.672	BB	552.91370	9.06041e-3	5.00963		ponceau 50ul
13.413	VB	746.31580	6.70385e-3	5.00319		červen allura 50ul
16.699	BB	675.49146	7.40414e-3	5.00143		azorubin 50ul

Totals : 20.02621

Amarant $t_R = 7,782$ min.

Azorubin $t_R = 16,699$ min.

Ponceau $t_R = 9,672$ min.

Červeň Allura $t_R = 13,413$ min.