

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

STUDIUM AUTENTICITY KOŘENÍ A KOŘENÍCÍCH PŘÍPRAVKŮ

Autoreferát doktorské disertační práce k získání vědecké hodnosti

„Doktor“ ve zkratce „Ph.D.“

Dizertační práce byla sepsána v rámci doktorského studijního programu na Vysokém učení technickém v Brně na Ústavu chemie potravin a biotechnologií.

Uchazeč: Ing. Václav Štursa
Ústav chemie potravin a biotechnologií FCh VUT v Brně

Školitel: doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Ústav chemie potravin a biotechnologií FCh VUT v Brně

Školitel specialista: RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.
Ústav chemie potravin a biotechnologií FCh VUT v Brně

ABSTRAKT

Tato dizertační práce se zabývá problematikou ověřování geografické autenticity různých druhů koření a kořeních přípravků. Jako vzorky byly zvoleny česnek (*Allium sativum*), mletá paprika (*Capsicum anuum*) a sušená mrkev (*Daucus carota*). Teoretická část dizertace se zabývá hlavními kvalitativními parametry zkoumaných surovin a technologií výroby, následně způsoby falšování potravin, a statistickými metodami používanými v chemometrii. Cílem této disertační práce bylo ověření hypotézy, zda je možné pomocí cílených technik, které se běžně používají při kontrole kvality koření a kořeních přípravků, a pomocí statistického zpracování naměřených dat odlišit od sebe vzorky koření a kořeních přípravků z různých geografických oblastí. Zkoumáno bylo také využití necílené analýzy. Pro účely cílené analýzy byly použity vzorky česneku a mleté papriky. Zkoumanými parametry byly sušina a vlhkost vzorku, obsah popela, celkový obsah fenolických látek dle Folin-Ciocalteua, obsah sacharidů, koncentrace alliinu, celkový obsah dusíku, barvivost ASTA, pH vodného extraktu, celkový obsah tuku, a koncentrace vybraných prvků (Ca, Cu, Fe, K, Mn, Mg, Na, P, Zn). Použitými instrumentálními technikami byly molekulová absorpční spektrometrie, optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Získaná data byla statisticky zpracována pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) a analýzou hlavních komponent (PCA). Pomocí statistické analýzy byly nalezeny signifikantní rozdíly mezi vzorky, které pocházely ze vzdálenějších oblastí. Vzorky pocházející z bližších oblastí se však rozlišit nepodařilo. Zkoumanou hypotézu se tak nepodařilo jednoznačně potvrdit, ani vyvrátit. Pomocí necílené analýzy byl stanoven metabolický fingerprint u vzorků mrkve. Metabolická analýza byla provedena pomocí tandemové techniky LC-TOF-MS. Data byla upravena metodou rekurzivní extrakce píků (BRE) a následně byla tato data zpracována pomocí PCA. Vzorky byly rozděleny do klastrů podle svého původu. Cílené i necílené techniky mají velký potenciál v rámci ověřování geografické autenticity různých druhů koření. Hlavní podmínkou však je důsledné a dostatečné vzorkování, zaručené informace o původu vzorku a získání dostatečného množství vstupních dat do statistické analýzy.

KLÍČOVÁ SLOVA

Koření, geografická autenticita, falšování potravin, HPLC, ICP-OES, LC-TOF-MS, chemometrie

OBSAH

1	Úvod.....	5
2	Teoretická část.....	7
2.1	Česnek.....	7
2.2	Paprika.....	7
2.3	Mrkev.....	8
2.4	Minerální látky v potravinách rostlinného původu.....	8
2.5	Falšování potravin.....	9
2.6	Statistická analýza a chemometrie.....	12
3	Cíle práce.....	13
4	Experimentální část.....	14
4.1	Cílená analýza vzorků papriky a česneku.....	14
4.2	Necílená analýza vzorků mrkve.....	15
5	Výsledky a diskuze.....	17
5.1	Validace vybraných parametrů použitých instrumentálních metod.....	17
5.2	Cílená analýza vzorků česneku.....	19
5.3	Cílená analýza vzorků mleté papriky.....	26
5.4	Necílená analýza vzorků mrkve pocházejících z různých oblastí Rakouska.....	36
6	Závěr.....	40
7	Literatura.....	42
8	Publikace a výstupy.....	49

1 ÚVOD

Moderní kuchyně v současné době zná více než stovky druhů různých druhů rostlin, které v současné době označujeme souhrnným názvem koření. Některé z těchto rostlin se staly nedílnou součástí kuchyně tak, že si bez nich klasické vaření už ani nedokážeme představit [1]. Podle Vyhlášky č. 398/2016 Sb. je koření definováno jako části rostlin, zejména kořeny, oddenky, kůra, listy, nať, květy, plody, semena nebo jejich části [2]. Nicméně do kategorie koření jsou běžně zahrnovány kromě bylin i například některé druhy zeleniny, jež se běžně užívají k dochucování pokrmu [1].

Jak již bylo zmíněno, koření se v lidské kuchyni používá už tisíce let a je s ním spojen i vývoj a rozvoj kulinářství v jednotlivých oblastech podle typu rostliny, která je spjata s konkrétním regionem [3]. Zatímco mnohé bylinky a druhy zeleniny jsou pro nás ve střední Evropě velmi běžné, jiné druhy koření, především dovážené z jiných kontinentů, považujeme za exotické (kurkuma, hřebíček, zázvor, skořice, vanilka aj.). Najdou se však i takové druhy koření, které zde nejsou původní. Nicméně díky šlechtění a správnému pěstování došlo ke zdomácnění tohoto koření i ve střední Evropě, a povedlo se těmto druhům tak silně zakotvit v místním kulinářství, že zde byly prakticky přijaty za vlastní. Díky této staletí trvající místní domestikaci koření, jako v případě mleté papriky, získaly tyto produkty specifické vlastnosti, které zvyšují kvalitu místní suroviny. Zároveň ale zvyšují tak i cenu produktu [3].

V současné době především díky globalizaci společnosti a mezinárodnímu obchodu již takřka není problém získat na trhu jakýkoliv typ koření nebo potraviny určené ke koření pokrmů i z druhého konce světa. To je velkou výhodou při dovozu surovin nebo produktů, které jsou v našich končinách těžko dostupné, nebo i nemožné k získání vzhledem k nevhodným klimatickým podmínkám pro pěstování. Na druhou stranu rozšířením základny dodavatelů se tak rozšiřuje i konkurence a soupeření o koncového zákazníka [3][4]. Při dovozu surovin ze zemí třetího světa rozhodně zůstává výhodou nízká cena, za kterou tyto produkty můžeme nakupovat. Nevýhoda tkví v koncové kvalitě dovážených produktů. A díky dlouhému dodavatelskému řetězci může být dováženo koření, které ne vždy splňuje podmínky dané legislativou Evropské unie, nebo podmínky místních prováděcích vyhlášek. Dovážené koření může být i záměrně falšováno za účelem vyššího finančního zisku při prodeji koncovému spotřebiteli [1][4].

Irský básník James Joyce je autorem známého citátu: „Bůh učinil pokrm, ďábel koření.“ V dnešní době by se ale dalo spíše říci, že Bůh naučil lidi užívat koření, ďábel je naučil koření falšovat. Falšování potravin je zřejmě tak staré, jako lidstvo samo. Již ve starověku a středověku jsou známy případy nekalé obchodní činnosti, kdy se pivo či víno ředilo vodou, nebo se obchodníci pokoušeli, mnohdy i pro konzumenta nebezpečnými chemickými cestami, zhodnotit své jinak bezcenné potravinářské zboží. Vzhledem k tomu, že s kořením se obchodovalo od pradávna a bylo považováno za drahou komoditu, bylo i falšování koření poměrně běžné [4]. Zabýváme-li se falšováním potravin, hovoříme zároveň o tzv. autenticitě potravin. Autenticita potravin je ujištění, že veškeré vlastnosti potraviny jsou řádně vyznačeny na jejím obale, a jsou v souladu s očekáváním spotřebitele. Vzhledem k tomu, že koření je obvykle dodáváno ve formě mletého prášku, je narušení autenticity koření formou přidávku různých adulterantů, tedy cizích příměsí, velmi zjednodušeno [3][4].

V současné době je také velkým tématem tzv. geografická autenticita potravin. Geografická autenticita potravin zahrnuje řádné označení země původu potravin a s tím spojené ověřování, zda nedošlo k uvedení nepravdivé informace o zemi původu dané komodity. Právě rozdíly v chuti, vůni a v chemickém složení různých komodit závisí nejen na biologickém druhu, ale i geografickém původu suroviny [1]. V historii potravinářských výrob je možné se setkat s mnoha příklady výrobků pocházejících z určité země nebo oblasti, které byly považovány za více kvalitní, než z jiných zemí. Jako typické příklady je možné uvést francouzská vína, řecké olivy, italský či španělský olivový olej, české pivo, gruzínský koňak, a spoustu dalších produktů. Vysoká kvalita těchto výrobků vždy odpovídala i jejich horší dostupnosti na trhu, a jejich koncové ceně. V případě koření lze sledovat podobnou závislost jako u jiných zmíněných potravin. Cena kvalitního koření vypěstovaného na specifických místech světa se stala hlavní motivací nepoctivých výrobců a dodavatelů, kteří se snaží tyto potraviny falšovat a uvádět na trh produkty nižší kvality pod značkou kvalitního produktu [1][5].

Falšování země původu patří mezi typy falšování potravin, které mají uvést spotřebitele v omyl. U tohoto typu falšování na rozdíl od přídavku různých adulterantů obvykle nedochází k ohrožení zdravotní nezávadnosti falšované potravin. Nicméně falšování potravin obecně snižuje důvěru spotřebitele v trh, a zároveň poškozují dobré jméno poctivých výrobců potravin [5]. Z toho důvodu i některé soukromé certifikační organizace, jako je BRC (*British Retail Consortium*), zavedly jako jeden z povinných bodů certifikace i prevenci před výskytem falšované suroviny ve výrobě (již dokumentace BRC verze č. 7) [3][5].

Protože nepoctiví výrobci se snaží o čím dál více sofistikovanější způsoby falšování potravin, je stále vyvíjen velký tlak na potřebu rozvíjet rychlejší a průkaznější analytické techniky, které falšování potravin odhalí. V rámci analýzy potravin je v současnosti moderním trendem použití tzv. nečíslených technik, které se nezaměřují na sledování konkrétního analytu ve zkoumané potravine, ale zabývají se záznamem tzv. fingerprintu/otisku prstu zkoumané komodity [4][5].

Pod tlakem zavádění nových a modernějších metod se často zapomíná na metody, které jsou již velmi dobře zavedené a známé. Tyto metody navíc na rozdíl od těch moderních často nevyžadují tak vysoké investiční náklady a vysoce kvalifikovaný personál pro provádění analýz.

Cílem této disertační práce je zkoumání možností využitelnosti „běžných“ analytických metod i metod moderních pro ověření geografického původu koření a kořenících přípravků. V této práci byla konkrétně zkoumána mletá paprika, česnek a mrkev vypěstované v různých lokalitách. Ke zpracování naměřených dat byly použity techniky chemometrie, a to konkrétně analýza rozptylu (ANOVA) a analýza hlavních komponent (PCA).

2 TEORETICKÁ ČÁST

Kořením se dle české Vyhlášky č. 398/2016 Sb. rozumí části rostlin, zejména kořeny, oddenky, kůra, listy, nať, květy, plody, semena nebo jejich části, v nezbytné míře technologicky zpracované a užívané k ovlivňování chutě a vůně potravin. Tato vyhláška dále definuje způsob označování koření, ale také jedlé soli, dehydratovaných výrobků, ochucovadel, studených omáček, dresinků a hořčice, možné odchylky v hmotnosti u komerčně dodávaných balení a fyzikálně-chemické a senzorycké parametry jednotlivých produktů [2][6][7].

Koření patří do skupiny potravin, které jsou poměrně citlivé k falšování, protože jsou obvykle prodávány v podobě mletého prášku. Dodavatelské řetězce jsou poměrně dlouhé a složité, často přesahující mezinárodní rozsah, a v jakémkoliv článku tohoto řetězce může dojít ke změnám na potravině, nebo její etiketě, a tedy i ke zfalšování dané potraviny. Vzhledem k množství koření, které je každoročně prodáno v celém světě, je koření v rámci autenticity přikládána zvláštní pozornost [8]. V České republice je vyhláškou stanoveno několik základních parametrů, které mají za úkol odhalit možné, mnohdy velmi sofistikované, způsoby falšování. Mezi fyzikální a chemické požadavky na koření, které jsou dané vyhláškou, patří nejvyšší přípustný obsah vlhkosti, celkový popel, obsah silic v sušině, popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové, případně další doplňující parametry [2].

Kromě státem určených parametrů se u koření stanovují i další kvalitativní parametry, které mají vypovídající hodnotu buď o kvalitě suroviny samotné, nebo o případném falšování potraviny. Z dalších stanovovaných kvalitativních parametrů to může být celkový obsah tuků, celkový obsah dusíku, barvivost, celkový obsah sacharidů, celková antioxidační aktivita, prvkové složení, nebo obsah fenolických látek.

2.1 Česnek

Česnek kuchyňský (*Allium sativum*) je potravina rostlinného původu z čeledi amarylkovitých [9]. Původ česneku se předpokládá ve střední Asii, ale rozšíření po celé Euroasii se předpokládá už od starověku. Česnek je bohatým zdrojem biologicky aktivních látek, kdy mnohé z nich mají protizánětlivé a antibakteriální účinky. Proto má dodnes využití nejen v kuchyni, ale i v lidovém léčení napříč světem [10]. V kulinářství se obvykle používají čerstvé stroužky česneku, nicméně v průmyslu se častěji česnek používá i v podobě sušených plátků, prachu, nebo granulátu.

Česnek je ceněn především díky své specifické štiplavosti, kterou mu dodávají organosírné sloučeniny, které u česneku mohou tvořit až 2,3 % hmotnosti jedlé části (stroužku). Hlavní bioaktivní složkou je allicin, který způsobuje specifické aroma rostlin rodu *Allium*. Mezi další významné nutriční složky rostlin rodu *Allium* patří sacharidy (obsažené ve formě fruktanů), bílkoviny a enzymy, fenolické látky a některé vitaminy a minerální látky [11][12].

2.2 Paprika

Paprika jako koření představuje rozemleté suché zralé plody určitých odrůd papriky roční (*Capsicum annuum* var. *longum* L.) [7]. Paprika rodu *Capsicum* je plodina pocházející původem ze střední Ameriky. Do Evropy se dostala díky španělským kolonizátorům a byla

jednou z prvních plodin, kterou přivezli. Dnes je její pěstování rozšířeno po celém světě. Paprika je v kuchyni využívána především jako barvivo a díky pálivosti pálivé papriky a chilli i jako ochucovadlo [7]. Po jejich sklizni podléhají několika technologickým úpravám, na jejichž konci je výsledkem koření používané v kuchyni jako mletá paprika.

Paprika je velmi dobrým zdrojem mnoha nutričně významných látek. Jedná se například o látky tvořící barevný pigment (kapsanthin, kapsorubin, kryptoxanthin, zeaxanthin aj.), aroma, látky zodpovědné za pálivost papriky (kapsaicin, dihydrokapsaicin), antioxidační vlastnosti (kyselina askorbová, tokoferol, polyfenoly) a sacharidy [8]. Obsah těchto nutričně významných látek závisí především na geografických faktorech, jako jsou zeměpisná poloha, nadmořská výška, úhrn srážek, teplota v průběhu vegetačního období, množství slunečního záření aj. [11][12]. Obsah těchto biologicky aktivních látek může být ovlivněn hnojením, složením půdy, množstvím živin v půdě, pH půdy nebo dalšími faktory jako je vyzrálост plodů, čas sklizně nebo uskladnění plodů před zpracováním po sklizni [6][8][11][12].

2.3 Mrkev

Mrkev (*Daucus carota* L) je jednou z nejvýznamnějších surovin v lidské stravě po celém světě. Je to jednoletá bylina z čeledi miříkovitých, jejíž kořen je bohatý na velké množství nutričně významných látek. Různé odrůdy mrkve se v různých formách konzumuje po celém světě celá staletí. V kulinářství se spolu s celerem a petrželí používá i jako koření přípravek v zeleninových kořenících směsích, jako jsou např. Vegeta nebo Podravka [13].

Mrkev patří mezi tradiční zemědělské komodity, která má zároveň celosvětový ekonomický význam. Dle FAO (*Food and Agricultural Organization* = Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů) je roční produkce mrkve přes 428 milionů tun. Tím se mrkev řadí mezi 10 nejvíce pěstovaných druhů zeleniny na světě. Tak velké množství potenciálně dovozové potraviny motivuje některé země k ochraně vlastního zemědělského trhu a vzniká tak i nutnost kontroly této suroviny [14][15].

Mrkev je dobrým zdrojem jak minerálních látek (vápník, fosfor, železo a hořčík), tak i organických látek, jako například sacharidů (6-10 %), vitaminů, nebo vlákniny (0,8-2,5 %). Množství bílkovin (0,6-1,2 %) a tuků (0,1-0,6 %) je srovnatelné s běžnou rostlinnou stravou. Obsah vody u mrkve kolísá mezi 86-89 % [16].

Mrkev je podobně jako další druhy zeleniny bohatá na tzv. fytonutrienty. Fytonutrienty nebo fytochemikálie jsou sloučeniny produkované rostlinami. Jsou to primární nebo sekundární metabolity rostlin, které mají za úkol rostlinu chránit před chorobami, patogeny, nebo predátory [17]. V lidské výživě mají tyto fytochemikálie význam jako biologicky aktivní látky, které mají příznivé účinky na lidský organismus. A to především díky antioxidačním vlastnostem. Mezi nejdůležitější skupiny fytochemikálií u mrkve patří karotenoidy a fenolické látky, polyacetyleny a kyselina askorbová [13].

2.4 Minerální látky v potravinách rostlinného původu

Pro lidské zdraví a správné fungování organismu jsou minerální látky nepostradatelné, proto je nutné je přijímat v potravě. Ta musí být vyvážená tak, aby konzumentovi poskytla všechny potřebné minerální látky. Minerální látky jsou v živých organismech přítomny v různých

formách. A to jak ve formě enzymových kofaktorů, tak i jako volné ionty například regulující osmotický tlak v buňkách [18][19].

Minerální látky se v různých matricích vyskytují v různé skladbě a koncentraci. Například čerstvý česnek obsahuje poměrně širokou škálu různých esenciálních a stopových prvků, jako jsou vápník, fosfor, draslík, sodík, hořčík, hliník, železo, měď, mangan, chrom, molybden, selen, germanium a jod [57]. Mezi nejvíce zastoupené minerální látky u plodů červené papriky patří především sodík, draslík, hořčík, vápník, měď, fosfor železo a zinek [19]. Mrkve obsahují hlavně vápník, hořčík a draslík. Další prvky obsažené v mrkvi se uplatňují zejména v dráze sekundárních metabolitů a fytochemikálií [18].

Prvkové složení potraviny krom nutričního hlediska má velký význam i při studiu autenticity dané potraviny. Určení prvkového nebo izotopového složení je jednou z klíčových metod při určování geografické autenticity potraviny, protože právě prvkové složení potraviny je přímo spojené s původem, odkud daná potravina pochází. Proto je prvkové analýze v rámci ověřování nebo určování geografické autenticity potraviny věnována zvýšená pozornost [20].

2.5 Falšování potravin

Pojem autentická potravina je přesně definován Evropskou komisí pro standardizaci (CEN). Autentické jídlo je popsáno jako „*shoda mezi vlastnostmi potravinářského produktu a odpovídajícími tvrzeními o potravinářském produktu*“ [21]. Elliott et. al. rozšiřuje tuto definici tvrzením, že „*pravost potravin je o zajištění toho, aby potraviny nabízené k prodeji nebo prodávané byly takové povahy, podstaty a kvality, jaké kupující očekává*“ [22]. To, co je, nebo není autentická potravina, je obvykle řízeno místními/národními zvyklostmi v daném místě, kde se obchodník snaží svůj produkt prodat. Samotná definice konkrétní autentické potraviny pak musí být zakotvena v legislativě daného státu.

Falšováním potravin můžeme v širším měřítku nazvat jakoukoli neshodu vyrobené potraviny s potravinovým právem nebo záměrné klamání spotřebitele za účelem finančního zisku. Hlavním mechanismem je provedení změny potraviny nebo uvedení nepravdivého údaje na jejím obalu [23][24]. Falšování potravin lze rozdělit na dvě základní skupiny, které se v některých případech vzájemně prolínají. První je falšování ve smyslu uvádění nepravdivých údajů na etiketě a uvádění spotřebitele v omyl. V těchto případech se obvykle nejedná o provádění změn na potravině a spotřebiteli nehrozí bezprostřední nebezpečí při konzumaci takové potraviny. Je však klamán a výrobce/dodavatel takové potraviny má na potravině vyšší finanční zisk. V druhém případě se jedná o falšování ve smyslu úpravy potraviny nepovoleným způsobem nebo způsobem následně neuvedeným na etiketě. U této skupiny falšování již dochází ke změnám u potraviny a nezdědka se může jednat i o použití látek v potravinářské výrobě zakázaných a pro zdraví konzumenta nebezpečných. Často se také jedná o nastavování potraviny za účelem zisku většího množství produktu při stejném objemu výroby [23][21][24].

S nárůstem podvodů v oblasti falšování potravin roste i potřeba na rychlejší a průkaznější techniky, které falšování potravin odhalí. Zjištění autenticity dané potraviny je důležité pro celý řetězec od zemědělce, přes výrobce až po konečného konzumenta, pro nastavení jednotných pravidel a podmínek, díky kterým spotřebitel nebude klamán a zároveň nedojde

k újmě na zdraví [23]. Techniky, které se používají při ověřování autenticity potravin, můžeme rozdělit na cílené a necílené techniky. Mezi cílené techniky řadíme analytické metody, na základě kterých chceme identifikovat a kvantifikovat množství zkoumaného analytu (ať už nějakého kvalitativního parametru, nebo falšující látky), který se v potravine nachází. Necílené techniky právě nemají za primární cíl identifikovat zkoumané analyty. U zkoumaného vzorku vytváříme tzv. fingerprint/otisk prstu, který má potravinu definovat jako celek. Po získání analytického výstupu často přichází druhá fáze, kdy dochází k výběru relevantních dat, která jsou kvantifikována a vytváří přehled o charakteru zkoumané matrice jako takové, aniž bychom znali konkrétní zkoumané sloučeniny [23][3]. Existuje mnoho různých metod, které se dají použít při autentifikaci geografického původu koření, případně odhalení falšování země původu. Jednotlivé techniky jsou voleny podle konkrétní komodity, požadavku na rychlost stanovení a požadavku na zjištění konkrétního typu falšování [23]. Nečastěji se uplatňují metody prvkové analýzy (ICP-OES/ICP-MS/Sr-IR-ICP-MS), chromatografické metody (LC/HPLC nebo GC/GC-MS), metody analýzy DNA (RAPD-PCR/HRM-PCR), imunochemické metody (ELISA, biosensory), spektroskopické metody (IR/Raman, NMR) nebo kapilární metody (FZCE) [23].

2.5.1 Způsoby falšování koření a mletých přípravků

U koření existuje poměrně mnoho možností jeho falšování, čemuž zásadně napomáhá skutečnost, že je na trh dodáván ve formě jemného prášku, který tak může obsahovat mnoho nedeklarovaných nebo i nelegálních příměsí. Jedním z nejmarginalnějších způsobů falšování je výskyt anorganických příměsí a cizích organických složek. V obou případech se jedná o přimíchávání cizích složek do potraviny za účelem zvýšení množství a hmotnosti dané potraviny, kterou následně obchodník prodá za stejnou cenu, jako potravinu nefalšovanou, kvalitní. Anorganickými příměsemi máme na mysli jakékoli rozemleté kamení, cihly, písek, prach aj. složky anorganického původu [24][3]. Jako cizí organické příměsi se obvykle přimíchávají zbytky stonků a listů dané plodiny, případně tráva nebo plevel nebo i úplně jiná rostlina. Tím výrobce získá větší množství prodávaného zboží [3]. Skutečnost, že byla do mletého koření přimíchána ve větší míře nějaká cizí příměs, lze zjistit stanovením množství popela ve vzorku, případně stanovením popela nerozpustného v kyselině chlorovodíkové. Oba tyto parametry jsou stanoveny Vyhláškou č. 398/2016 Sb. [2]. Při odchýlení se od těchto parametrů se dá očekávat nějaký typ falšování.

S přimícháváním cizích příměsí do koření je spojena i vyšší měrná hmotnost produktu. Té v případě koření lze dosáhnout nejen přimícháváním jiných složek, ale i vyšší vlhkostí produktu. Protože se jedná o dehydrovaný produkt, tedy prášek získaný sušením, každé procento nevysušené vody může při velkých množstvích znamenat velký rozdíl v hmotnosti a tak i větší finanční zisk. Zároveň se stoupající vlhkostí roste i vodní aktivita potraviny a riziko její kontaminace mikroorganismy, především plísněmi, z nichž některé produkují mykotoxiny.

Jakost některých druhů koření se často posuzuje i na základě dalších doplňujících parametrů. Mnoho druhů koření (mletá papriky, šafrán, kurkuma aj.) se v kulinářství používají v pokrmech především jako barvivo. Proto bývá jedním z častých způsobů falšování koření ovlivňování barvivosti. Jak již bylo zmíněno dříve, základní kvalitativní parametr

mleté papriky je obsah karotenoidních barviv, který se vyjadřuje jako barvivost mleté papriky s jednotkou ASTA. ASTA je vyhláškou stanovený povinný doplňující údaj, který se musí značit u velkoobchodně dodávaných balení papriky. Čím je vyšší ASTA, tím je samozřejmě i vyšší cena papriky. Výrobci se snaží samozřejmě všemi možnými způsoby zajistit, aby byla ASTA papriky co nejvyšší. Nicméně karotenoidní barviva časem podléhají oxidaci a hodnota ASTA tak klesá a s ní i cena mleté papriky. V zásadě existují dva způsoby, jak lze dosáhnout vyšší barvivosti u méně kvalitních druhů koření. Přimícháním oleoresinu nebo přidávkem umělých aj. barviv [7].

Státní zemědělská a potravinářská inspekce zaznamenala v uplynulých letech problémy především s falšováním chilli papriček pomocí umělých barviv Sudan I-IV, která nejsou povolena v potravinářském průmyslu, protože jsou klasifikována jako třetí kategorie karcinogenů. Z dalších umělých barviv se v mleté paprice nebo chilli objevují barviva, jako je Rhodamine B, Orange II, nebo Para red, což jsou potenciálně karcinogenní látky. Užívání umělých barviv má pro výrobce výhodu v jejich chemické stabilitě, kdy barvivost produktu v čase neklesá, ale užíváním těchto barviv ohrožují bezpečnost konzumenta [25]. Barvu koření lze falšovat i přírodními barvivy, jako např. bixinem, ta jsou ale určena pro barvení úplně jiného typu potravin, a nikoliv koření [25]. Přídavek těchto barviv se nejspíše a nejrychleji zjistí pomocí infračervené spektrometrie a nalezením konkrétních spekter indikujících obsah konkrétních látek v mleté paprice. Při nižších koncentracích jsou tato barviva, stejně jako případné další kontaminanty (např. pesticidy), detekovatelná pomocí LC-MS (tandemová technika kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie) [26].

Fenomémem falšování barvy mleté papriky je také přidávání oleoresinu. Jak již bylo zmíněno, oleoresin je olejovitý extrakt získávaný extrakcí z papriky. Je stabilnější než samotná paprika, nicméně jeho přimíchávání do papriky a zvyšování tak hodnoty ASTA musí být jasně deklarováno. První informací, která může pomoci k odhalení přídavku oleoresinu, může být stanovení celkového obsahu lipidů v mleté paprice. Obsah lipidů se u mletých paprik pohybuje přibližně mezi 9-12 % hm. [27]. Při podezřele vyšším obsahu pak lze stanovit celkový obsah karotenoidních barviv pomocí HPLC nebo LC-MS, případně porovnat IR spektra a odhalit zbytky rozpouštědla oleoresinu, které se v mleté paprice přirozeně nevyskytuje [26].

Některé potravinářské výrobky pocházející z Evropské unie (EU) jsou dnes opatřeny také ochrannou známkou PDO/CHOP (*Protected Designation of Origin* = Chráněné označení původu). CHOP je označení výjimečného zemědělského produktu nebo potraviny z daného regionu či místa, jejichž jakost nebo vlastnosti jsou dány zvláštním zeměpisným prostředím (Nařízení 1151/2012 o režimech jakosti zemědělských produktů a potravin) [28]. Protože se jedná o regionální záležitost a pěstování je omezeno jenom na určité množství půdy, produkce tohoto chráněného produktu je omezená a jeho cena se mění v závislosti na úrodě daného roku. Také díky své specifitě jsou obvykle produkty opatřené CHOP dražší, než produkty nechráněné, případně produkty z dovozu. U produktů opatřených CHOP tak existuje riziko falšování geografického původu potraviny. K odhalení falšování země původu se v současnosti užívá několik analytických technik. Většina technik je založena na specifickém složení dané potraviny, kdy se stanovuje tzv. fingerprint – otisk prstu. Předpokladem je, že

stejně jako jsou jedinečné papilární linie každého člověka, tak je specifické i chemické složení potravin pocházející z konkrétní oblasti [29]. Nejběžněji se stanovuje prvkové složení (elemental fingerprint) pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Stanovuje se prvkové složení jak dané potravin, tak i půdy, ve které tato potravina roste. Odlišuje-li se významně zkoumaný vzorek od produktů, pocházející ze stejné oblasti, lze spekulovat o pravosti původu dané potravin z deklarované oblasti. Stanovuje se složení především mikroelementů a prvků vzácných zemin. Slabinou této techniky je částečně se měnící profil půdy, a to i vzhledem k jejímu hnojení zemědělci. Technika, jejímž účelem je snaha tuto slabinu eliminovat, je hmotnostní spektrometrie stabilních izotopů stroncia (Sr-IR-ICP-MS). Izotopový poměr stroncia je na rozdíl od jiných prvků stabilnější a více závislý na geografickém původu daného produktu a je obecně přijímáno, že izotopový poměr stroncia nepodléhá zásadním změnám při celém koloběhu od půdy, přes rostlinu až do konečného produktu. Nevýhodou této techniky je náročnost a pořizovací cena zařízení [29].

2.6 Statistická analýza a chemometrie

Ruku v ruce s analytickými metodami jdou statistické metody a vytváření statistických modelů popisujících danou komoditu. Důležité je mít dostatek parametrů, na základě kterých lze určit podobnost či rozdílnost daných surovin a jejich specifita [22][24]. Mezi nejčastěji používané statistické metody patří klastrová a hierarchická klastrová analýzy (CA, HCA), diskriminační analýza (DA, DPLS, PLS-DA), lineární diskriminační analýza (LDA), umělá neurální síť (ANN), *Soft Independent Modeling Class Analogy* (SIMCA) a *Support Vector Machines* (SVM) [30]. Metody a techniky používané v kvalitativní analýze autenticity potravin lze rozdělit na řízené a neřízené metody.

Neřízené metody se svým přístupem snaží rozdělit data set do skupin bez jakýchkoli předdefinovaných kategorií, kdy trendy jsou definovány přímo během analýzy bez jakékoliv předchozí znalosti jakýchkoliv trendů nebo stopy. Běžně užívané neřízené metody v oblasti analýzy potravin jsou založeny na klastrové analýze[30].

Řízené metody jsou založeny na předchozím přidělení klasifikace vzorkům pro vytvoření příslušných matematických modelů (např. zkušební set). Později mohou být na základě predikce neznámé objekty generovány do vytvořených modelů [31]. Řízené modely předpokládají, že některé struktury existují v data setu a vyžadují, aby byla vzorku přidělena předdefinovaná podskupina používající „umělé“ proměnné pro vytvoření klasifikačních pravidel, která jsou následně použita pro přidělování nových a neznámých vzorků do nejpravděpodobnější podskupiny[31][32]. Oblíbenými řízenými metodami užívanými v rámci analýzy potravin je lineární diskriminační analýza (LDA), diskriminační analýza (DA) a metoda regrese nejmenších čtverců (DPLS nebo PLS-DA) [31][33].

3 CÍLE PRÁCE

Cílem této disertační práce bylo ověření hypotézy, zda je možné pomocí cílených technik, které se běžně používají při kontrole kvality koření a kořenících přípravků, a pomocí statistického zpracování naměřených dat odlišit od sebe vzorky koření a kořenících přípravků z různých geografických oblastí. Zkoumanými druhy koření a kořenících přípravků byly česnek a mletá paprika. Kromě cílené chemické analýzy s využitím běžně dostupných analytických technik bylo také zkoumáno použití necílené chemické analýzy, pomocí které byl získán celkový metabolický fingerprint vzorků mrkve pocházejících z různých spolkových zemí Rakouska a následnou aplikací chemometrických metod bylo zkoumáno, zda se podaří na základě získaných výsledků analýz zkoumané vzorky od sebe odlišit

Za účelem splnění cílů práce byly řešeny tyto dílčí úlohy:

- Zpracování literární rešerše s ohledem na zkoumané komodity a jejich kvalitativní parametry
- Výběr vhodných analytů a tedy i vstupních parametrů do následné statistické analýzy
- Výběr vhodných cílených analytických technik vhodných ke stanovení vybraných analytů
- Zajištění dostatečného množství vzorků pro získání relevantních dat
- Provedení validace vybraných metod pro analýzu vzorků
- Analýza vzorků vybranými metodami a vyhodnocení získaných dat
- Statistické zpracování experimentálních dat pomocí jednorozměrné (ANOVA) i vícerozměrné (PCA) statistické analýzy

Veškeré získané poznatky zkoumané problematiky byly zpracovány v této disertační práci, diskutovány a v závěru shrnuty. Výsledky práce byly prezentovány na několika vybraných konferencích v českém i v anglickém jazyce a byly publikovány v odborných časopisech.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Cílená analýza vzorků papriky a česneku

4.1.1 Popis vzorků

V práci bylo použito celkem 16 vzorků česneku různého geografického původu. Bylo použito 11 vzorků čerstvého česnek a 5 vzorků dehydrovaného česneku. Vzorky pocházely z České republiky, Ukrajiny, Francie, Číny, Indie a Polska.

Pro účely dizertační práce bylo v běžné obchodní síti zakoupeno celkem 37 vzorků mleté papriky různého geografického původu. Vzorky pocházely z Číny (7), Indie (9), Evropy (17) a dalších částí světa (4), jako je Turecko, Maroko a USA. Celkem 11 vzorků (z Evropy) bylo opatřeno ochrannou známkou „Chráněné označení původu“.

4.1.2 Metody stanovení vybraných parametrů

V rámci srovnání cílených analytických metod používaných k ověřování autenticity potravin byly použity následující metody (viz Tabulka č. 1). Všechny analýzy byly provedeny pro každý vzorek ve třech opakováních. U metod byla provedena jejich validace viz kapitola 5.1.

Tabulka č. 1 – Vybrané stanovované parametry, použitá metoda a typ vzorku.

Parametr	Metoda stanovení	Vzorek
Stanovení alliinu	HPLC-DAD	Česnek
Stanovení sušiny	Gravimetricky	Česnek
Stanovení celkového obsahu fenolických látek[34]	Folin-Ciocalteu	Česnek
Stanovení obsahu fruktosy v česneku	HPLC-ELSD	Česnek
Stanovení celkového obsahu dusíku podle Kjeldahla[35]	ČSN EN ISO 1871	Paprika, česnek
Stanovení obsahu vybraných prvků (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, Zn)[36]	ICP-OES	Paprika, česnek
Stanovení barvivosti ASTA[37]	ČSN ISO 7541	Paprika
Stanovení popela[38]	ČSN EN ISO 928	Paprika
Stanovení vlhkosti[39]	ČSN ISO 7540	Paprika
Stanovení pH vodného extraktu	-	Paprika
Stanovení celkového obsahu tuku podle Soxhleta[40]	ČSN EN ISO 1108	Paprika
Stanovení obsahu sacharidů v mleté paprice	HPLC-ELSD	Paprika

4.1.3 Statistické zpracování experimentálních dat

Získaná experimentální data byla zpracována v MS Excel (Microsoft Corporation, USA) pomocí doplňkového softwaru XLstat (Addinsoft, USA). Získaná data byla nejdříve podrobena testu normálního rozdělení dat, a následně analýze rozptylu (ANOVA – *Analysis of Variance*). Pro nalezení statisticky významných rozdílů mezi vzorky v jednotlivých parametrech byl proveden Tukeyho srovnávací test na hladině významnosti $P < 0,05$.

Parametry, které vykazovaly statisticky významné rozdíly, byly vybrány pro následnou vícerozměrnou analýzu. Jako vícerozměrná analýza byla použita analýza hlavních komponent (PCA – *Principal Component Analysis*), s jejíž pomocí byly pozorovány korelace mezi získanými parametry a vzorky pocházející z různých geografických oblastí.

4.2 Necílená analýza vzorků mrkve

4.2.1 Popis vzorků mrkve

Pro účely analýzy byly použity vzorky mrkví odrůd PariserMarkt 4, Napoli, Circeo von Clause a Dordogne. Vzorky pocházely z pěti spolkových zemí v Rakousku od místních biozemědělců. Z každého pole bylo odebráno 15 vzorků přibližně stejné velikosti z různých částí pole. Vzorky byly omyty neionizovanou vodou a uloženy v plastových sáčcích do mrazicího boxu, kde byly skladovány při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Vzorky určené na metabolomickou analýzu byly rozmrazeny, nakrájeny na drobné kousky, znovu zmrazeny na teplotu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a následně lyofilizovány. Lyofilizované vzorky mrkví byly následně rozdrceny na prášek a uchovávány po dobu analýzy v lednici.

4.2.2 Příprava vzorků mrkve na necílenou analýzu pomocí LC-TOF-MS

Extrakty vzorků byly připraveny podle již dříve publikované metody [14] s drobnými úpravami. Do vialek bylo naváženo 0,1 g lyofilizovaného vzorku mrkve. Vzorky byly smíchány s vychlazenými rozpouštědly (0,5 ml chloroformu, 0,3 ml methanolu a 0,2 ml vody) a promíchány na vortexu po dobu 5 s. Následně byly vzorky třepány 60 min při 150 rpm, smíchány s dalšími 0,5 ml směsi methanolu s vodou (20 % v/v) a znovu třepány 30 min při stejné frekvenci. Vzorky byly následně centrifugovány po dobu 15 min při 2200 rpm, čímž byly odděleny chloroformová, pevná a vodná frakce. Vodná frakce vzorků byla odebrána a přefiltrována přes nylonový filtr o pórovitosti $0,45\text{ }\mu\text{m}$. Vzorky byly zředěny vodou (MS grade) v poměru 1:5. Z každého vzorku bylo odebráno 50 μl vzorku. Vzorky ze stejných regionů byly smíchány dohromady (celkový objem 750 μl) a byly vytvořeny směsné vzorky z každého regionu (qc vzorky regionu). Z těchto regionálních směsných vzorků bylo odebráno dalších 50 μl vzorku a smícháno dohromady. Takto byl vytvořen celkový směsný vzorek celého data setu (QC vzorky). Tyto směsné vzorky následně posloužily ke kontrole kvality prováděných analýz.

4.2.3 Analýza vzorků mrkve pomocí LC-TOF-MS

Metabolomická analýza byla provedena za použití chromatografu Agilent model 1290 Infinity II zapojeného v tandemu s 6230b Time-of-Flight hmotnostním spektrometrem vybaveným Dual Jetstream ESI interfacem. Chromatografická separace byla provedena na základě

metody dle Jaitz et al. 2010 [41]. Při analýze bylo využito gradientové eluce. Pro účely analýzy byla snímána hmotnostní spektra mezi 50-1700 m/z v módu negativní polarity. Pro všechna měření byl použit režim detekce rozšířeného dynamického rozsahu o rozsahu 2 GHz s rychlostí zápisu tří TOF spekter za sekundu.

4.2.4 Vyhodnocení LC-TOF-MS spekter

Hmotnostní spektra jednotlivých vzorků byla získána pomocí softwaru Agilent Mass Hunter Data Acquisition Workstation (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) na základě online kalibrace referenční hmotnosti. Hrubá data byla zpracována metodou rekurzivní extrakce píků (*batch recursive feature extraction* – BRE) pomocí softwaru MassHunter Profinder B.08.00 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) a Progenesis QI 2.4 (Nonlinear Dynamics Ltd., Newcastle upon Tyne, Velká Británie).

Metoda byla validována na základě stability retenčního času, odchylky určení hmoty a opakovatelnost měření vyjádřené pomocí relativní směrodatené odchylky. Pro posouzení těchto validačních parametrů bylo vybráno pět reprezentativních píků z QC vzorků (viz. Tabulka č. 5). Píky byly vybrány napříč spektrem intenzit a retenčních časů.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Validace vybraných parametrů použitých instrumentálních metod

Pro ověření správnosti získaných experimentálních dat a posouzení vhodnosti konkrétní techniky byla provedena validace analytické metody. Proces validace slouží k prokázání spolehlivosti analytické metody a ověření platnosti zvoleného analytického postupu.

5.1.1 Validace metod stanovení alliinu a sacharidů pomocí HPLC

Metody stanovení alliinu a sacharidů pomocí HPLC byly validovány na základě opakovatelnosti měření, výtěžnosti metody (recovery) a linearity v rozsahu měřených koncentrací. Byly posouzeny kvalitativní faktory, jako počet teoretických pater, symetrie píku a posun retenčního času[42][43][44][45].

Tabulka č. 2 – Počet teoretických pater, faktor asymetrie, tailing faktor a posun retenčního času HPLC metod stanovení alliinu a sacharidů

Vzorek	Analyt	n (-)	A_s (-)	T (-)	SD t_R (min)
Česnek	Alliin	3624	1,13	1,06	0,01
Česnek	Fruktosa	3691	1,31	1,16	0,01
Paprika	Fruktosa	2568	1,06	1,03	0,01
	Glukosa	2177	0,93	0,96	0,01
	Sacharosa	2954	1,39	1,19	0,01

Poznámky: n – počet teoretických pater; A_s – asymetrický faktor; T – tailing; SD t_R – směrodatná odchylka retenčních časů jednotlivých sacharidů

Tabulka č. 3 – Výsledky opakovatelnosti, výtěžnosti, linearity měření, LOD a LOQ metod

Vzorek	Analyt	RSD (%)	Y_c (%)	R^2	LOD ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	LOQ ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)
Česnek	Alliin	4,61	89,24	0,9937	0,00524	0,01747
Česnek	Fruktosa	3,89	97,39	0,9958	0,38	1,27
Paprika	Fruktosa	3,44	98,56	0,9926	0,36	1,19
	Glukosa	3,57	95,18	0,9931	0,72	2,39
	Sacharosa	4,01	96,81	0,9991	0,48	1,59

Poznámky: RSD (%) – relativní směrodatná odchylka stanovených ploch píků; Y_c (%) výtěžnost metody stanovení konkrétního sacharidu v procentech; R^2 - koeficient determinace lineární funkce; LOD – limit detekce; LOQ – limit kvantifikace.

5.1.2 Validace metody stanovení vybraných prvků pomocí ICP-OES

Validace metody prvkové analýzy byla provedena opakovaným měřením slepého pokusu a měřením certifikovaného referenčního materiálu CRM Metranal 3 – Jahodové listí, který byl zpracován stejnou metodou jako vzorky. V rámci validace byla zkoumána opakovatelnost, výtěžnost metody, LOD a LOQ a linearita metody v rozsahu měřených koncentrací [46].

Tabulka č. 4 – Validované parametry ICP-OES: Opakovatelnost, výtěžnost, limity detekce a kvantifikace, koeficient determinace lineární funkce

Prvek	RSD (%)	Y_c (%)	LOD ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	LOQ ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	R^2
Ca	1,16	97,13	1,7056	2,656	0,9959
K	2,25	103,44	0,17872	0,3472	0,9994
Mg	1,28	98,27	0,8552	1,352	0,9987
Na	2,10	96,65	0,503	0,53	0,9997
P	1,56	94,71	0,082	0,193	0,9993
Cu	0,73	96,08	0,038	0,055	0,9999
Fe	1,90	93,97	0,015	0,033	0,9995
Mn	1,47	99,30	0,055	0,105	0,9999
Zn	2,91	91,36	0,009	0,024	0,9998

Poznámky: RSD (%) – relativní směrodatná odchylka Y_c (%) výtěžnost metody; LOD – limit detekce; LOQ – limit kvantifikace; R^2 - koeficient determinace lineární funkce.

5.1.3 LC-TOF-MS

Metoda necílené analýzy mrkve byla validována na základě stability retenčního času, odchylky určení hmoty a opakovatelnosti měření, vyjádřené pomocí RSD.

Tabulka č. 5 – Opakovatelnost vyhodnocení založená na pěti vybraných pících z QC vzorků

Pořadí píku	t_R (min)	m/z	Δm (mDa)	SD t_R	RSD (%)
1.	2.91	164.0732	0.66	0.01	8.1
2.	4.08	218.1065	0.38	0.01	5.8
3.	7.09	351.1323	0.41	0.01	3.0
4.	8.77	563.1770	0.90	0.01	4.0
5.	11.95	365.2140	0.48	0.01	5.4

Poznámky: t_R (min) – retenční čas; SD t_R – směrodatná odchylka retenčních časů v 9 QC vzorcích; RSD (%) – relativní směrodatná odchylka ploch píků 9 QC vzorků; Δm (mDa) – odchylka hmoty pro každý pík v mDa.

5.2 Cílená analýza vzorků česneku

5.2.1 Obsah alliinu

Spotřebitele, zejména v Česku, nejvíce zajímá subjektivní „síla“ česneku, kterou představuje zejména jeho senzorická štiplavost. Za štiplavost česneku jsou zodpovědné především organosírné sloučeniny vyskytující se v metabolické dráze alliinu [47]. Nejvyšší koncentrace alliinu byla stanovena u vzorku čerstvého česneku ‚Ljubaša‘ z ČR (CZ-Lju), a to $7,9 \pm 0,4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Nejnižší obsah alliinu byl stanoven u vzorku granulovaného vzorku původem z ČR, a to $0,9 \pm 0,1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace alliinu činila $3,7 \pm 1,8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Mezi naměřenými koncentracemi alliinu jednotlivých vzorků byl na hladině významnosti 0,05 nalezen statisticky významný rozdíl ($P < 0,0001$). Pomocí Tukeyho testu byly vzorky rozříděny do několika skupin podle obsahu alliinu. Vyšší obsah alliinu byl v porovnání se sušenými vzorky stanoven u čerstvých vzorků. U sušených vzorků byl rovněž zjištěn nižší obsah fenolických látek, které jsou stejně jako alliin citlivé na vzdušný kyslík. U těchto látek dochází při sušení a následném mletí k jejich degradaci a jejich obsah ve česneku v čase klesá mnohem rychleji. Při porovnání čerstvých vzorků mezi sebou vykazovaly vyšší koncentraci alliinu vzorky pocházející z České republiky a Francie. Oproti tomu nižší koncentrace alliinu vykazovaly vzorky česneku odrůdy ‚Ljubaša‘ z Ukrajiny. Porovnáním odrůdy ‚Ljubaša‘ z Česka a z Ukrajiny bylo zjištěno, že český vzorek této odrůdy obsahoval alliinu nejvíce. O alliinu tak můžeme uvažovat jako o jednom z parametrů, který je výrazně ovlivněn geografickým původem vzorku. Tento fakt naznačují ve své studii i Hong et. al. (1997) a Montano et. al. (2011) [48][49].

Získaná data byla porovnána s údaji v dostupné literatuře. Vzhledem k nízké stabilitě alliinu se výsledky publikované jinými autory vzájemně velmi liší [50]. Český česnek zkoumali Grégrová et. al. (2013), kteří uvádějí obsah alliinu v česneku $4,9 \pm 1,2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ [51]. Podobné výsledky, jakých bylo dosaženo v této práci, uvádějí i Khar et. al. (2011), kteří stanovili množství alliinu u indického česneku v rozmezí $3,04\text{--}3,91 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, a Lawson & Hughes (1992), kteří udávají množství alliinu v česneku průměrně $3,7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ [52][53]. Oproti tomu Prati et. al. (2014) a Hatwal (2015) udávají množství alliinu v česneku o jeden řád vyšší, tedy $20,73\text{--}24,31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a $37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ [54][55].

5.2.2 Sušina

Jeden ze základních jakostních parametrů, kterým lze charakterizovat potravinu, je sušina. Sušina zahrnuje všechny organické i anorganické součásti potravin kromě vody [56]. Rostlinné potraviny obsahují přibližně 70–90 % vody v závislosti na druhu. U různých vzorků česneku se může obsah sušiny lišit především podle odrůdy, nebo podle způsobu pěstování v konkrétní lokalitě [57]. Z čerstvých vzorků byl nejvyšší obsah sušiny stanoven u vzorku ukrajinského česneku ‚Ljubaša‘ č. 2 (UA-Lju2) s celkovou sušinou $39,7 \pm 0,4 \%$. Nejmenší obsah sušiny byl stanoven také u odrůdy ‚Ljubaša‘, ale vzorek byl původem z Česka (CZ-Lju). Celková sušina tohoto vzorku činila $33,09 \pm 0,06 \%$. Mezi hodnotami sušiny čerstvých vzorků česneku byl staticky významný rozdíl ($P < 0,0001$), vzorky byly na základě Tukeyho testu rozříděny do několika skupiny. Průměrná sušina u vzorků čerstvého česneku činila $35,8 \pm 2,1 \%$. Stanovená sušina byla porovnána s údaji uvedenými v české Nutridatabázi a s

výsledky jiných autorů [58]. Nutridatabáze udává sušinu u čerstvého česneku 39,9 %. Chekki et. al. (2014) stanovili sušinu u tuniského česneku průměrně 34 % [59].

V případě sušených vzorků česneku byl nejvyšší obsah sušiny stanoven u vzorku sušených plátků z Indie (IN-SBA) se sušinou $94,27 \pm 0,01$ %. Nejnižší obsah sušiny obsahoval vzorek česnekového granulátu z Česka (CZ-Gr2) se sušinou $91,54 \pm 0,01$ %. Mezi hodnotami sušiny sušených vzorků česneku byl staticky významný rozdíl ($P < 0,0001$), vzorky byly na základě Tukeyho testu rozříděny do několika skupiny. Průměrná sušina u vzorků sušeného česneku činila $94,3 \pm 1,1$ %.

5.2.3 Celkový obsah fenolických látek (TPC)

Vedle organosírných sloučenin k celkové zdravotní prospěšnosti česneku přispívají i fenolické látky, které mají antioxidační účinky. Fenolické látky mají schopnost záchytu kyslíkových radikálů, které mohou poškozovat jiné buňky, nebo mohou způsobovat degradaci organosírných sloučenin [60]. Česnek patří mezi druhy zeleniny s největším obsahem fenolických látek [61]. Celkový obsah fenolických látek v česneku kolísá vlivem genotypu, ekotypu a pěstebními podmínkami. Zároveň však někteří autoři pozorovali odchylky v koncentracích fenolických látek i vlivem lokality pěstování [62]. Nejvyšší celkový obsah fenolických látek byl stanoven u vzorku českého sadbového česneku, odrůda ‘Bjetin’ (CZ-Bj). Celkový obsah fenolických látek byl u tohoto vzorku $0,449 \pm 0,013$ mg·100 g⁻¹. Nejnižší celkový obsah fenolických látek byl stanoven u vzorku česnekového granulátu původem z české republiky (Česnekový granulát G4 (CZ) – CZ-Gr1). Celkový obsah fenolických látek byl u tohoto vzorku $0,0129 \pm 0,0005$ mg·100 g⁻¹.

V obsahu TPC jednotlivých vzorků byl na hladině významnosti 0,05 statisticky významný rozdíl ($P < 0,0001$). Tukeyho test rozřídil vzorky do několika skupin podle obsahu TPC. Nižší obsah fenolických látek vykazovaly především sušené vzorky (granulát, mletý česnek), kde k poklesu obsahu fenolických látek mohlo dojít už při výrobě tepelným namáháním. Jakékoliv tepelné namáhání (mletí, blanšírování, smažení, fritování aj.) významně snižuje obsah TPC a organosírných látek v česneku [62]. Sušené vzorky mají také díky mletí větší měrnou plochu, která může být v kontaktu s kyslíkem, čímž může docházet k oxidaci fenolických látek. Vyšší obsah fenolických látek byl zjištěn u čerstvých vzorků sadbového česneku, což souvisí s integritou tkáně česneku a s obsahem vody. Celistvá tkáň je méně přístupná vzdušnému kyslíku a biologicky aktivní látky, jako jsou fenolické látky, pak nepodléhají tak snadno oxidaci [62]. Zároveň bylo možné pozorovat vyšší obsah fenolických látek u vzorků českých odrůd sadbového česneku z Česka, což může souviset s lokalitou, protože vzorky pocházeli od stejného dodavatele. Do stejné skupiny byly zařazeny české vzorky ‘Bjetin’, ‘Lukan’, ‘Havel’ a ‘Slavin’ pocházely z východních Čech. Do vlastní společné skupiny byly zařazeny také například vzorky z Francie ‘Primor’ a ‘Therador’.

Získaná data byla porovnána s výsledky publikovanými jinými autory. Lenková et al. (2017) stanovili obsah fenolických látek v rozmezí 62,11-76,33 mg·100 g⁻¹ [63]. Nižší obsah TPC byl u česneku popsán autory Chekki et al. (2014) a Kavalcová et. al. (2014), kteří udávají celkové množství fenolických látek v česneku Chekki 43,6 mg·100 g⁻¹ a Kavalcová 27,02 mg·100 g⁻¹ [59][64]. Qiu et. al. (2020) udávají celkový obsah fenolických látek v česneku

průměrně $2,28 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [61]. Podobné výsledky, jakých bylo dosaženo v této práci, publikovali Al-Nagdy et. al. (1988), kteří stanovili celkový obsah fenolických látek v česneku v rozmezí $0,1-0,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [65].

5.2.4 Obsah fruktosy

Fruktosa se v česneku nachází především ve formě fruktanů, případně glukofruktanů. V lidské výživě jsou fruktany důležité jako prebiotikum, tedy výživa střevní mikroflóry. Nejjednoduššími způsoby, jak stanovit fruktany, případně celkové sacharidy obsažené ve vzorku, je chemická nebo enzymatická hydrolýza pomocí enzymu inulinasy. Výsledkem hydrolýzy jsou volné monosacharidy (fruktosa a glukosa), které lze následně stanovit např. pomocí HPLC-ELSD [56]. V současné době je oficiální metodou pro stanovení fruktanů AOAC Official Method 997.08 Fructan in Food Products, Ion Exchange Chromatographic Method z roku 1999. Metoda je založena na stanovení sacharidů a fruktanů po extrakci horkou vodou. V prvním kroku jsou v extraktu stanoveny volné monosacharidy. Následně je extrakt podroben hydrolýze, a v hydrolyzátu jsou stanoveny koncentrace jednotlivých sacharidů uvolněných z fruktanů. Obsah fruktanů je vypočítán z bilance fruktosy a glukosy před a po hydrolýze. Součtem obou koncentrací je následně získán údaj o celkovém množství sacharidů ve zkoumaném vzorku [56]. V této dizertaci byla použita modifikovaná metoda kyselá hydrolýza vzorků česneku za tepla pomocí 1 % roztoku kyseliny chlorovodíkové. Hydrolyzáty byly následně vyčiřeny pomocí Carezzových činidel a zfiltrány. Získaný roztok sacharidů byl analyzován pomocí HPLC-ELSD. Kontrola účinnosti hydrolýzy byla ověřena na standardním roztoku inulinu, který byl pomocí hydrolýzy kompletně převeden na fruktosu. Obsah dalších sacharidů byl pod limitem detekce použité metody. Výsledný obsah sacharidů ve vzorcích česneku byl tedy vyjádřen jako celkový obsah fruktosy.

Koncentrace fruktosy se v analyzovaných vzorcích česneku pohybovala mezi $36,02 \pm 0,53 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ - $69,12 \pm 0,08 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Nejvyšší koncentrace fruktosy byla stanovena u vzorku mletého česneku z Číny (CH-Kr). Nejnižší koncentrace fruktosy byla stanovena u vzorku čerstvého česneku 'Ljubaša' z Ukrajiny (UA-Lju2). Mezi koncentracemi fruktosy jednotlivých vzorků byl na hladině významnosti 0,05 statisticky významný rozdíl ($P < 0,0001$). Tukeyho test roztrídil vzorky do několika skupin podle obsahu TPC. Vyšší obsah fruktosy byl zjištěn u vzorků sušeného česneku (hlavně z Číny) a u vzorků z Francie. Naproti tomu byly nižší koncentrace fruktosy stanoveny u vzorků česneku z České republiky. Rozdíly mezi koncentracemi fruktosy u jednotlivých vzorků mohly být způsobeny různými odrůdami, ale také různým geografickým původem. Ovlivnění koncentrace fruktosy geografickým původem vzorků, podobně jako u alliinu, uvádějí ve svých studiích i Hong et. al. (1997), Montano et. al. (2011) a Bonasia et. al. (2020) [48][49][66].

Získaná data o obsahu fruktosy v česneku byla porovnána s českou Nutridatabází a dalšími údaji dostupnými v odborné literatuře. Nutridatabáze udává množství sacharidů v čerstvém česneku $28,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, nicméně u lyofilizovaného česneku udává množství sacharidů $73,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [58]. Podobné výsledky, jaké udává Nutridatabáze, uvádí i Chen et. al, kteří zkoumali různé odrůdy čínského česneku. U Čínských odrůd česneku se obsah sacharidů pohyboval mezi $32,31 \pm 0,15 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a $80,47 \pm 0,20 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [67]. Qiu et. al. (2020) u čerstvého čínského česneku naměřili celkový obsah sacharidů $83,70 \pm 11,40 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [61].

Nižších výsledků dosáhli Bonasia et. al. (2020) kteří stanovili obsah sacharidů u italských odrůd česneku mezi 17,8-40,7 mg·100 g⁻¹ [66].

5.2.5 Celkový obsah dusíku

Celkový obsah dusíku je parametr, který tvoří veškeré dusíkaté látky nacházející se ve vzorku potravin. Metodou dle Kjeldahla lze stanovit organický dusík jeho převedením na síran amonný a následnou titrací. Ze stanoveného celkového obsahu dusíku lze následně vynásobením faktorem 6,25 vypočítat množství hrubé bílkoviny ve vzorku. Celkový obsah dusíku, tedy i obsah hrubé bílkoviny, může u jednotlivých vzorků variovat především podle rostlinného druhu, způsobu pěstování, nebo i s geografickým původem zkoumaného vzorku. Celkový obsah dusíku se u jednotlivých vzorků liší především podle rostlinného druhu, způsobu pěstování, nebo i geografickou polohou [68]. Celkové množství dusíku se v jednotlivých vzorcích česneku pohybovalo mezi 1,480±0,001 a 6,944±0,084 g·100 g⁻¹. Nejnižší množství dusíku obsahoval vzorek francouzského sadbového česneku odrůdy 'Sabagold'. Nejvyšší množství dusíku obsahoval vzorek sadbového česneku 'Ljubaša' z České republiky. Průměrné množství dusíku v analyzovaných vzorcích činilo 3,43±1,29 g·100 g⁻¹.

Obsah dusíku jednotlivých vzorků se na hladině významnosti 0,05 statisticky významně lišil (P<0,0001). Tukeyho test rozřídil vzorky do několika skupin podle obsahu TPC. Nejvyšší obsah dusíku obsahovaly vzorky z České republiky a Ukrajiny. Naproti tomu nižší množství dusíku obsahovaly vzorky z Číny a Francie. Rozdíly mezi jednotlivými vzorky mohly být způsobeny různými faktory, jako je genetický původ, nebo způsob hnojení. Nicméně některé studie poukazují na adaptabilitu česneku v novém prostředí, kam je přesunut. Tedy že na celkové složení česneku nemá vliv pouze jeho odrůda a způsob pěstování, ale i geografická poloha a půda, kde je česnek pěstován [62] [54][66].

Naměřené výsledky byly porovnány s českou Nutridatabází a dostupnou literaturou. Česká nutridatabáze udává obsah dusíku v česneku 1,0 g·100 g⁻¹ [58]. Hatwal et. al. (2015) stanovili obsah dusíku v česneku mezi 2,34-2,95 g·100 g⁻¹ [55]. Naproti tomu Santos et. al. (2017) stanovili průměrný obsah dusíku u španělských česneků 6,17 g·100 g⁻¹ [69]. Případné rozdíly mezi výsledky naměřenými v této práci a publikovanými jinými autory mohou být způsobeny použitím různých odrůd česneku a odlišnými geografickými a klimatickými faktory.

5.2.6 Prvková analýza česneku

Podobně jako je tomu u jiných komodit, tak i u česneku prvková analýza může být využita jako účinný nástroj k diferenciaci vzorků pocházejících z různých geografických oblastí [70]. V této dizertační práci byly pomocí techniky ICP-OES stanoveny koncentrace sodíku, draslíku, fosforu, hořčíku, vápníku, železa a zinku. Mezi vybranými prvky byla i měď, ale její koncentrace v analyzovaných vzorcích byla pod limitem detekce, není proto dále v této kapitole diskutována. Analyzované prvky byly vybrány na základě několika faktorů. Jedná se především o prvky běžně se vyskytující v rostlinné tkáni, které nepatří mezi kontaminanty a naopak mají v rostlině zásadní biologickou funkci. Tyto prvky jsou také běžně používané pro ověření geografického původu vzorku [11][71].

Z analyzovaných prvků bylo ve vzorcích česneku nejvíce zastoupeno **železo**. Průměrná koncentrace železa u vzorků česneku činila $4,81 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. V rostlinné tkáni je železo obvykle součástí redoxních systémů a kofaktorů některých enzymů, jako jsou katalasy nebo peroxidasy. V nehemové formě se železo nachází vázané v thiolových skupinách mezi molekulami cysteinu, resp. je koordinováno v železo-disulfidických můstcích. Vazba železa na cystein může být vysvětlovat nalezenou korelaci mezi obsahem železa a celkového obsahu dusíku ($R=0,6379$; $P<0,05$).

Druhým nejvíce zastoupeným prvkem byl **draslík**. Draslík se obecně vyskytuje ve vyšších koncentracích v rostlinných tkáních. Draselné ionty se nacházejí jak v cytoplasmě, tak na povrchu buněk. Draslík zásadně přispívá k osmotickému potenciálu buněk a pomáhá neutralizovat ionty např. organických kyselin a stabilizovat pH v buňce. Koncentrace draslíku se ve vzorcích česneku pohybovala mezi $4,68 \pm 0,02 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a $10,47 \pm 0,06 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace draslíku ve zkoumaných vzorcích česneku činila $7,44 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Fosfor se v potravinách rostlinného původu vyskytuje především ve formě fosfátových iontů, které jsou navázány v makroergických sloučeninách, jako je ATP apod. Fosfor má i stavební funkci. Váže nukleové kyseliny, a podílí se na výstavbě fosfodiesterové vazby u fosfolipidů. Koncentrace fosforu se ve vzorcích česneku pohybovala mezi $0,162 \pm 0,003 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a $0,301 \pm 0,006 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace fosforu činila $0,236 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Metabolická funkce **zinku** v rostlinné tkáni je založena na tendenci vytváření tetraedrálních komplexů s dusíkem, kyslíkem a částečně sírou. Zinek je součástí enzymů, jako jsou alkohol dehydrogenasa, karboxypeptidasa, fosfatasa, fosfolipasa, protein synthasa nebo superoxid dismutasa. Koncentrace zinku se ve vzorcích česneku pohybovala mezi $0,08 \pm 0,05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a $4,56 \pm 2,76 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace zinku činila $1,08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Vápník má v rostlinné tkáni funkci jako strukturní komponent makromolekul, kterým tak poskytuje možnost vytváření intramolekulární vazeb, a to především v buněčné stěně a v plasmatické membráně. Koncentrace vápníku se ve vzorcích česneku pohybovala mezi $0,12 \pm 0,01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a $0,39 \pm 0,07 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace vápníku činila $0,51 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Hořčík je dvoumocný kation, který se v rostlinách váže iontovou vazbou na silně nukleofilní ligandy. Nachází se kovalentně vázaný v molekule chlorofylu. Podstatná část hořčíku je v rostlinných buňkách zapojena do regulace pH a iontové rovnováhy. Koncentrace hořčíku se ve vzorcích česneku pohybovala mezi $0,32 \pm 0,02 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a $0,68 \pm 0,01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace hořčíku činila $0,50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Nejméně zastoupeným prvkem byl **sodík**. Koncentrace sodíku vzhledem k jeho selektivnímu příjmu rostlinnou tkání kolísá nejen mezi různými rostlinnými druhy, ale i mezi genotypy stejného druhu. Dostatečná koncentrace sodíku v půdě je důležitá především pro natrofilní druhy rostlin. Koncentrace sodíku se ve vzorcích česneku pohybovala v rozmezí od limitu detekce do $0,0694 \pm 0,0004 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace sodíku byla $0,026 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Celkově byl z hlediska obsahu minerálních látek nejlepší vzorek sušeného česneku z Indie. Naopak nejméně minerálních látek obsahoval vzorek sadbového česneku 'Primor' z Francie.

Na základě analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti 0,05 bylo zjištěno, že mezi koncentracemi železa ($P=0,0025$), draslíku ($P=0,0016$), fosforu ($P<0,0001$), vápníku ($P<0,0001$), hořčíku ($P<0,0001$) a sodíku ($P=0,0015$) jednotlivých vzorků byl statisticky významný rozdíl. Pomocí Tukeyho testu byly tyto vzorky rozříděny do několika skupin podle koncentrace konkrétního prvku.

Získaná data byla porovnána s výsledky publikovanými jinými autory a potravinovými databázemi. Výsledky se od sebe vzájemně velmi liší. Rozdílnosti jsou dány především původem vzorků, způsobem pěstování, hnojení, a pravděpodobně i použitou odrudou česneku. Data publikovaná jinými autory jsou shrnuta v Tabulce č. 6.

Tabulka č. 6 – Koncentrace sodíku, draslíku, hořčíku, vápníku, fosforu, železa a zinku ve vzorcích česneku publikované jinými autory

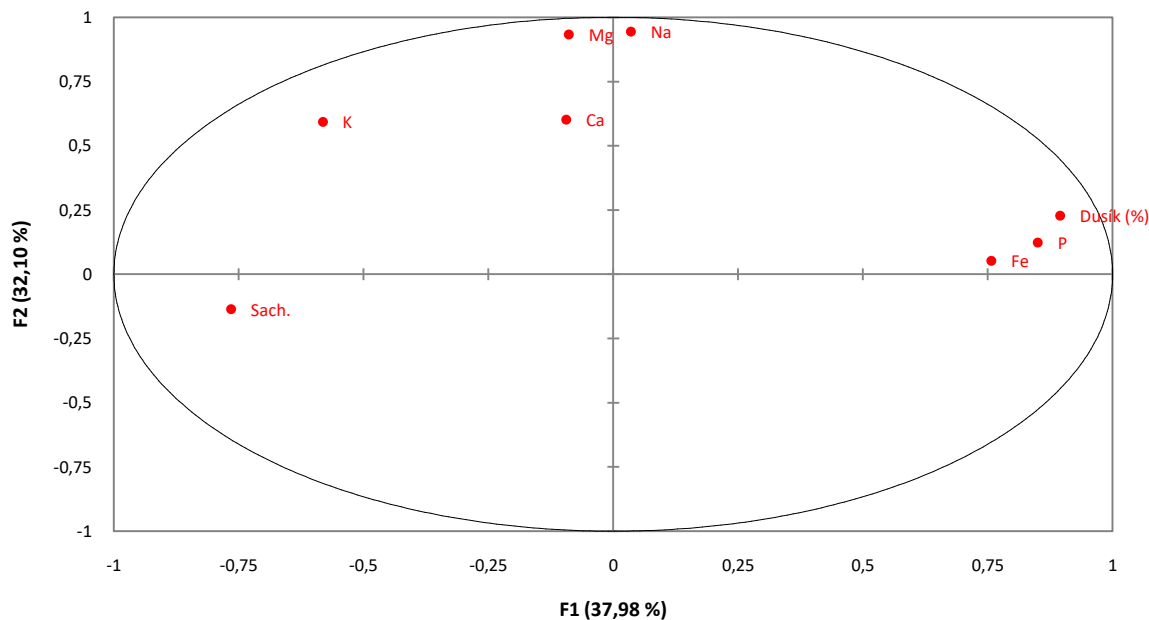
Výsledky v ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	Na	K	Mg	Ca	P	Fe	Zn
Kang (2016) [72]	0,86	21,17	0,97	0,36	-	-	-
Sendl (1995) [57]	0,08	3,73	0,08	0,18	0,64	0,022	0,009
Putnik (2019) [50]	0,17	4,01	0,25	1,81	1,53	0,017	0,012
Nutridatabáze [58]	0,13	4,18	0,25	0,38	1,43	0,013	-
Oh (2020) [73]	0,6	52,0	3,0	0,8	9,5	0,096	0,028
Bonasia (2020) [66]	0,65	13,36	0,10	0,54	0,341	-	-
Chekki (2014) [59]			0,015		0,14	0,0059	

5.2.7 Statistické zpracování naměřených dat

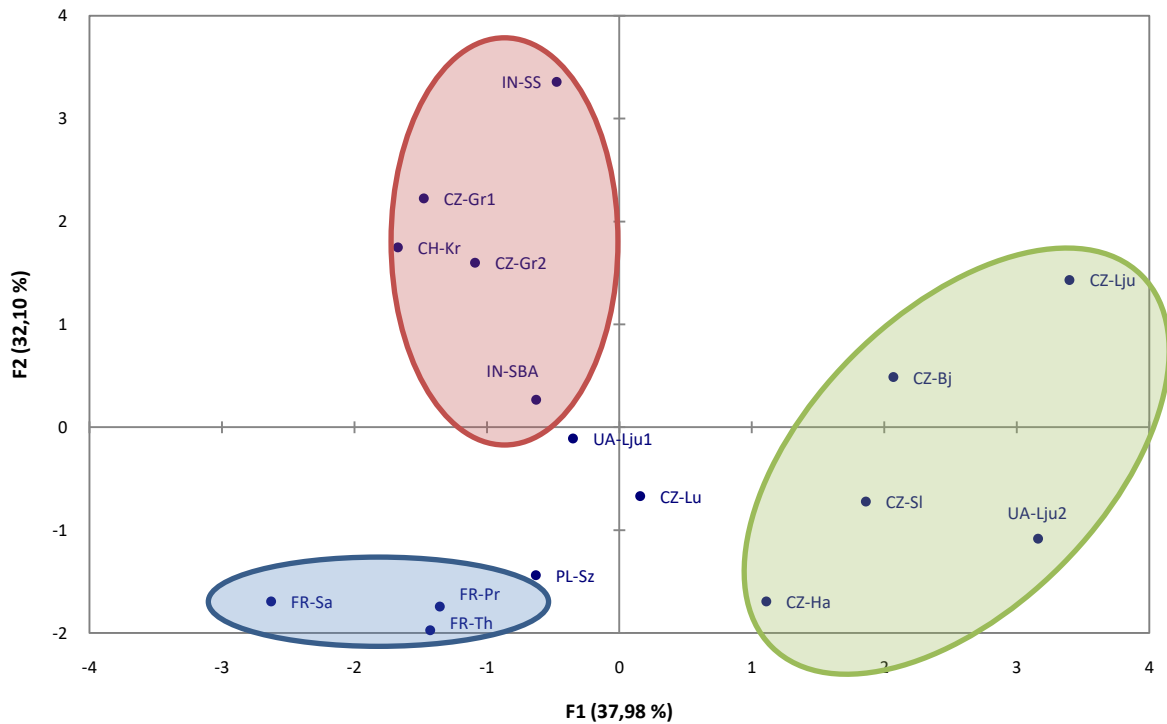
Získaná data byla statisticky zpracována pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti 0,05 a analýzy hlavních komponent (PCA). Pomocí ANOVA bylo z celkových 12 parametrů vybráno 8 parametrů, ve kterých se jednotlivé vzorky česneku od sebe vzájemně statisticky liší. Vybranými parametry byly celkový obsah dusíku ($P<0,0001$), celkový obsah sacharidů ($P=0,0143$), koncentrace fosforu ($P<0,0001$), hořčíku ($P<0,0001$), vápníku ($P<0,0001$), sodíku ($P=0,0015$), draslíku ($P=0,0016$) a železa ($P=0,0025$). Tyto proměnné byly následně použity do PCA, kde byly zredukovány do 3 hlavních komponent s eigenvalue > 1 , kde hlavní komponenty F1 a F2 tvořily 70,08 % variability původního data setu. Komponenta F1 byla silně pozitivně korelována celkovým obsahem dusíku a koncentrací fosforu a železa. Zároveň byla komponenta F1 silně negativně korelována koncentrací draslíku a celkovým obsahem sacharidů. U komponenty F1 byla ještě pozorována pozitivní korelace s koncentrací sodíku, a negativní korelace komponenty s koncentrací hořčíku a vápníku. Komponenta F2 byla silně pozitivně korelována koncentracemi hořčíku, vápníku, sodíku a draslíku. Další pozitivní korelace s komponentou F2 vykazovala s celkovým obsahem dusíku a koncentracemi fosforu a železa. Zároveň komponenta F2 vykazovala negativní korelaci s celkovým obsahem sacharidů.

Proměnné korelovaly také mezi sebou. Pozitivní korelace byla pozorována mezi celkovým obsahem dusíku a koncentracemi fosforu ($R=0,7596$) a železa ($R=0,6379$). Zároveň byla

pozorována pozitivní korelace mezi fosforem a železem ($R=0,6385$). Dusík i fosfor patří mezi biogenní prvky, které se podílejí na celkové buněčné výstavbě. Železo se často v rostlinách vyskytuje v komplexech s aminokyselinami, což může vysvětlovat pozitivní korelace železa a dusíku [19].



Obrázek č. 1 – Projekce proměnných do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2



Obrázek č. 2 – Projekce vzorků česneku do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2

Naproti tomu byla pozorována negativní korelace celkového obsahu sacharidů s celkovým obsahem dusíku ($R=-0,5975$) a s koncentrací fosforu ($R=-0,5676$). Zároveň byla pozorována pozitivní korelace celkového obsahu sacharidů s koncentrací draslíku ($R=0,5404$).

Další pozitivní korelace byly pozorovány mezi koncentrací hořčíku a koncentracemi sodíku ($R=0,8058$) a draslíku ($R=0,6230$). Zároveň byla pozorována pozitivní korelace mezi koncentrací sodíku a draslíku ($R=0,5582$). Sodík a draslík v živých systémech tvoří tzv. sodno-draselnou pumpu a napomáhají k udržování osmotického tlaku v buňkách. Zároveň všechny tyto tři prvky často pomáhají při aktivaci některých enzymů [19].

Nejlépe možné grafické zobrazení vztahů mezi jednotlivými vzorky je jejich projekce do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2. Vzorky byly rozděleny celkově do 3 klastrů. První klaster (zvýrazněný červenou barvou) se nachází v 1. Kvadrantu. Tento klaster je negativně korelován komponentou F1, pozitivně komponentou F2, a je tvořen především sušenými vzorky z Asie a ČR. Druhý klaster (zvýrazněný zelenou barvou) je pozitivně korelován komponentou F1 a tvoří ho hlavně vzorky sadbového česneku z České republiky a Ukrajiny. Ve 3. kvadrantu se nachází třetí klaster (zvýrazněn modrou barvou). Třetí klaster je negativně korelován komponentou F1, negativně korelován komponentou F2, a je tvořený vzorky především z Francie.

Specifika různých kombinací pozorování a parametrů jednotlivých vzorků a jejich proměnných lze pozorovat ve dvourozměrné projekci (obrázky 1 a 2). Vzorky vyprojektované v prvním klastru vykazují vyšší koncentrace hořčíku, sodíku, vápníku a draslíku. Tvoří ho především vzorky sušeného česneku. Proto se u vzorků českého granulátu nabízí otázka, zda je vyroben z českého česneku, nebo byl česnek na granulát pouze v České republice zpracován. Naproti tomu vzorky v druhém klastru obsahují vyšší koncentrace fosforu, železa a vyšší obsah celkového dusíku. Naproti tomu vzorky, které byly zobrazeny ve třetím kvadrantu, vykazují vyšší obsah celkových sacharidů.

5.3 Cílená analýza vzorků mleté papriky

5.3.1 Barvivost mleté papriky

Barvivost mleté papriky je hlavním kvalitativním parametrem, protože je mletá paprika v kulinářství používána především jako přírodní barvivo [7]. Barvivost mleté papriky klesá postupně s jejím stářím, může být ovlivněna necitlivým mletím, množstvím látek s antioxidačním účinkem, které barviva chrání před oxidací, a dalšími parametry, jako je například celková vlhkost aj. [74]. Velmi kvalitní a čerstvě umletá paprika by měla mít hodnotu ASTA okolo 200 ASTA. U papriky běžně dostupné na českém trhu se ASTA pohybuje v rozmezí 100-160 ASTA. Česká legislativa vyžaduje minimální barvivost lahůdkové papriky 80 ASTA. Avšak povoluje i levnější varianty, jako je „gulášová paprika“ nebo tomu podobné produkty, jejichž barvivost musí být minimálně 40 ASTA [2].

Nejvyšší barvivost byla naměřena u vzorku Kashmiri Mirch Powder z Indie, a to 186 ± 5 ASTA. Nejnižší barvivost byla naměřena u vzorku. Sweet paprika Bio z Maroka, a to 25 ± 1 ASTA. Celková průměrná hodnota ASTA všech vzorků činila 104 ± 45 .

Mezi hodnotami barvivosti jednotlivých vzorků vyjádřené pomocí ASTA byl nalezen statisticky významný rozdíl ($P=0,0007$). Jednotlivé vzorky byly pomocí Tukeyho testu rozříděny do několika skupin na základě barvivosti ASTA. Nejvyšších hodnot ASTA dosahovaly vzorky pocházející z Indie a z Maďarska, jejichž průměrná barvivost činila 176 ASTA. Naopak nejnižší barvivost byla stanovena u vzorků pocházející z Číny a Maroka, jejichž průměrná barvivost činila 35,2 ASTA.

Vysoká hodnota ASTA u vzorků papriky z Indie a Maďarska svědčí o čerstvosti a kvalitě zpracování mleté papriky. Nicméně to může být i zavádějící, protože někteří výrobci se uchylují k falšování mleté papriky umělými barvivy nebo uměle dodaným paprikovým oleoresinem [7][8]. Takový způsob falšování se potom projeví i na dalších parametrech, jako je celkový obsah tuků, nebo celkový obsah sacharidů aj. V případě vzorků z Indie lze falšování vyloučit. Celkový obsah tuků je u těchto vzorků průměrně stejně vysoký, jako u ostatních vzorků. Zároveň je u těchto vzorků nízká koncentrace jednotlivých sacharidů, které paprika spotřebovává při vyzrávání právě na syntézu barviv.

Oproti tomu vzorky z Číny vykazovaly hodnoty ASTA velmi nízké, stejně tak i celkový obsah tuku byl v čínských vzorcích v porovnání s ostatními vzorky nízký. Přitom vysoký obsah sacharidů. Jak již bylo zmíněno, při vyzrávání papriky dochází ke zvýšení barvivosti ASTA a snížení koncentrace sacharidů. Výsledky z analýz vzorků mleté papriky ukazují na možnost, že barviva (spolu s tuky) byly z papriky vyextrahovány pomocí nepolárních rozpouštědel na stabilní paprikový oleoresin, který má dále využití (nejen) v potravinářství.

Získaná data byla porovnána s výsledky jiných autorů. Zaki et. al. (2013) měřili ASTA u mleté papriky z Maroka. Naměřili průměrnou hodnotu barvivosti u mleté papriky z Maroka 125 ± 12 ASTA [75]. Molnár et. al. (2018) stanovili u Peruánské papriky barvivost 140 ± 35 ASTA, u Srbské papriky 101 ± 28 ASTA [76].

5.3.2 Obsah popela mleté papriky

Množství popela ve vzorku udává množství anorganických látek obsažených v potravíně. V případě mleté papriky může informace o množství popela odhalit organické nebo anorganické příměsi v mleté paprice. Maximální přípustné množství popela v sladké mleté paprice je dle české legislativy 7,0-9,0 % podle konkrétního typu papriky [2]. Tuto podmínku nesplnil pouze vzorek Žitavská paprika – floky ($12,70\pm 0,43$ g $\cdot 100$ g $^{-1}$), kde se jednalo o polotovár z výroby, který nebyl přetříděný a obsahoval viditelné části stopek a semínek, které se před mletím běžně odstraňují. Obsah popela se ve vzorcích (vyjma zmíněných floků) pohyboval v rozmezí od $4,69\pm 0,05$ do $8,28\pm 0,02$ g $\cdot 100$ g $^{-1}$. Nejvyšší množství popela bylo zjištěno u vzorku Atani původem z Číny. Nejnižší množství popela bylo zjištěno u Gaotai Hongfeng z města Zhangye, také v Číně. Průměrný obsah popela ve vzorcích mleté papriky činil $6,1\pm 1,4$ g $\cdot 100$ g $^{-1}$.

Mezi obsahem popela jednotlivých vzorků mleté papriky nebyl na hladině významnosti 0,05 statisticky významný rozdíl ($P>0,05$). Nižší obsah popela byl zjištěn u vzorků pocházejících především z Číny. Vyšší obsah popela byl zjištěn u vzorků z Evropy, dále u vzorku mleté papriky Atani z Číny, a u vzorku kalifornské papriky z USA. Jak již bylo zmíněno, obsah popela může zvýšit obsah cizích příměsí. Například polotovár floků Žitavské

papriky viditelně obsahoval větší množství stonků, semínek aj. částí, které se běžně ve výrobě odlučují (proto je i signifikantní rozdíl mezi obsahem popela obou mletých Žitavských paprik a tohoto polotovaru). Ostatní vzorky legislativní požadavek na maximální obsah popela splnily.

Získané výsledky byly srovnány s českou Nutridatabází a s dostupnou literaturou. Nutridatabáze udává obsah popela v mleté sladké paprice 6,4 % hm., což souhlasí s výsledky zjištěnými v této práci [58]. Lee et. al. (2017) a Zaki et. al. (2013) uvádějí také výsledky porovnatelné s výsledky uvedenými v této práci. Lee et. al. stanovili v mleté paprice množství popela $5,14 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [77]. Zaki et. al. ve své publikaci udávají množství popela u mleté papriky $6,5 \pm 0,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [75].

5.3.3 Obsah vlhkosti v mleté paprice

Vlhkost mleté papriky je jakostní parametr, který má vliv nejen na měrnou hmotnost produktu, ale i na řadu kvalitativních parametrů. Vlhkost mleté papriky má především vliv na stabilitu biologicky aktivních látek a na mikrobiologickou stabilitu produktu. Příliš nízká vlhkost papriky urychluje oxidaci látek, jako je vitamin C, tokoferol, tuky, nebo karotenoidní barviva. S vyšší vlhkostí se zvyšuje stabilita těchto látek při delším skladování. Naopak stoupne-li vlhkost mleté papriky nad 15 % hm., hrozí riziko rozvoje nežádoucích mikroorganismů a snižuje se bezpečnost potravin [78]. Pro zajištění rovných podmínek dodavatelů a zajištění bezpečnosti produktu je maximální přípustná vlhkost v mleté paprice upravena vyhláškou č. 398/2016 Sb. Česká legislativa a norma ČSN ISO 7540 připouští maximální vlhkost mleté papriky $11 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [2][39].

Vzorky mleté papriky pocházejících ze zemí mimo EU maximálně legislativně přípustný obsah vlhkosti nesplnily všechny vzorky z Číny, USA, Maroka a jeden turecký vzorek (Kirmizi pul Biber). Z evropských vzorků vyšší než legislativně přípustnou vlhkost obsahovaly vzorky z Bulharska (Sweet Paprika Organic), Maďarska (Házi Aráni, Paprika od Salvátora, Szegedi paprika) a Žitavská paprika – floky. Vlhkost se v jednotlivých vzorcích pohybovala v rozmezí od $7,32 \pm 0,02$ do $18,43 \pm 0,01 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Zjištěné hodnoty obsahu vlhkosti jednotlivých vzorků se mezi sebou na hladině významnosti 0,05 statisticky významně lišily ($P < 0,0001$). Výsledné hodnoty obsahu vlhkosti byly pomocí Tukeyho testu vzorky rozříděny do několika skupin. Nejnižší obsah vlhkosti byl stanoven u vzorku Hot Chili z indického Ghapturu. Nejvyšší obsah vlhkosti byl stanoven u vzorku Gaotai Hongfeng z města Zhangye v Číně. Průměrný obsah vlhkosti u analyzovaných vzorků činil $11,4 \pm 3,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Vlhkost papriky je tvořena vodou a těkavými látkami. Je-li sušení papriky prováděno při vyšších teplotách, může dojít nejen ke ztrátě vody, ale i některých těkavých biologicky aktivních látek. Proto vlhkost mleté papriky úzce souvisí s jejím technologickým zpracováním a zacházením s výsledným produktem, což se v různých zemích původu může lišit [79].

Získané výsledky byly porovnány s potravinovými databázemi (americká USDA a česká Nutridatabáze) a s dostupnou literaturou. Americká USDA udává obsah vlhkosti v paprice $11,24 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, což je v souladu s výsledky naměřenými v této dizertační práci. Naproti tomu česká Nutridatabáze udává nižší vlhkost v paprice, a to $7,9 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [80][58]. Stanovená

vlhkost vzorků papriky souhlasí s výsledky Duman a kol. (2010), kteří stanovovali vlhkost papriky při různých skladovacích podmínkách. Jejich výsledky se pohybovali v rozmezí od $9,68 \pm 0,31 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ do $12,38 \pm 0,19 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [79]. Vlhkost ve vzorcích mleté papriky zkoumali i Zaki et. al. (2013), kteří uvádějí průměrnou vlhkost u vzorků mleté papriky $9,5 \pm 0,9 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [75].

5.3.4 pH vodného extraktu mleté papriky

Jako jeden z fyzikálních kvalitativních parametrů u mleté papriky slouží hodnota pH vodného extraktu mleté papriky. Vliv na pH mají u extraktů mleté papriky především látky schopné uvolnit kyselý vodík, jako je kyselina askorbová, organické kyseliny, nebo volné aminokyseliny [75]. Hodnoty pH jednotlivých extraktů se pohybovaly v rozmezí od $4,13 \pm 0,01$ do $5,41 \pm 0,01$. Průměrné pH u jednotlivých extraktů mleté papriky činilo $4,95 \pm 0,30$.

Mezi jednotlivými extrakty mleté papriky byl z hlediska hodnoty pH na hladině významnosti 0,05 nalezen statisticky významný rozdíl ($P=0,0118$). Na základě hodnoty pH byly pomocí Tukeyho testu extrakty rozříděny do několika skupin. Nejnižší pH bylo zjištěno vzorku papriky Sweet Paprika Bio z Maroka a La Chinata ze Španělska. Nejvyšší pH bylo stanoveno u vzorku Hot Paprika z indického státu Rajasthan.

Získané výsledky byly porovnány se zahraniční literaturou. Zaki et. al. (2013) i Lee et. al. (2017) stanovili pH extraktů mleté papriky ve stejném rozsahu, jaký je uveden v této práci. Průměrné pH extraktů mleté papriky Zaki a kol činilo $5,5 \pm 0,4$; Lee a kol stanovili průměrnou hodnotu pH extraktů mleté papriky $5,05 \pm 0,02$ [75][77].

5.3.5 Celkový obsah tuku v mleté paprice

Celkové množství tuku v paprice je ovlivněno především odrudou a způsobem pěstování. Jedná se o parametr, který může (podobně jako nízký obsah karotenoidních barviv) odhalit možné falšování mleté papriky. Nižší obsah tuku může poukazovat na vyextrahování barviv a s nimi i tuku nepolárními rozpouštědly. Takto vyextrahovaná olejovitá kapalina se nazývá oleoresin a má využití jako potravinářské barvivo, které má však vyšší stabilitu oproti mleté paprice [7]. Naopak vyšší obsah tuku může naznačovat přidání oleoresinu do papriky, za účelem zvýšení barvivosti ASTA. Z toho důvodu norma ČSN ISO 7540 stanovuje maximální množství tuku v mleté paprice $17 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [39]. Nejméně tuku obsahoval vzorek Gaotai Hongfeng z města Zhangye, v Číně, a to $1,67 \pm 0,12 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Nejvyšší množství tuku obsahoval vzorek La Pastora ze španělské oblasti Murcia, jehož celkové množství činilo $21,01 \pm 0,25 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Tuto hodnotu lze těžko objasnit, protože nebyl k dispozici srovnávací reference. Nicméně španělské papriky označené CHOP se tradičně udí studeným kouřem, což může změnit složení výsledného produktu. Průměrné množství tuku bylo u zkoumaných vzorků mleté papriky stanoveno na $10,3 \pm 5,01 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Zjištěné hodnoty obsahu tuku jednotlivých vzorků se mezi sebou na hladině významnosti 0,05 statisticky významně lišily ($P < 0,0001$). Vzorky byly pomocí Tukeyho testu rozříděny do několika skupin. Vyšší obsah tuku byl stanoven u vzorků z Turecka, Indie, Španělska a u některých vzorků z Maďarska. Všechny tyto vzorky splnily podmínku maximálního množství

extraktu stanoveným ve specifikaci dle ČSN ISO 7540. Naproti tomu bylo méně tuku stanoveno u vzorků z Číny a Bulharska, kde je nízká ASTA těchto vzorků. Je tedy možné, že u těchto vzorků došlo k vyextrahování barviv na paprikový oleoresin.

Získaná data byla porovnána s potravinovými databázemi a publikovanými výsledky dalších autorů. Americká USDA udává obsah tuku v paprice $12,89 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a Česká Nutridatabáze $13,8 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [80][58]. Zaki et al. (2013) stanovili průměrné množství tuku u mleté papriky $8,4 \pm 2,6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [75]. Tyto výsledky jsou v souladu s průměrným obsahem tuku v mleté paprice zjištěným v této dizertační práci.

5.3.6 Celkový obsah dusíku mleté papriky

Metodou dle Kjeldahla lze ve vzorku potravin stanovovat celkové množství organicky vázaného dusíku jeho převedením na síran amonný a následnou titrací. Jak již bylo zmíněno dříve, celkový obsah dusíku tvoří všechny dusíkaté látky, jako jsou bílkoviny, aminokyseliny, aminy aj. Celkový obsah dusíku, tedy i obsah hrubé bílkoviny, může u jednotlivých vzorků variovat především podle rostlinného druhu, způsobu pěstování, nebo i s geografickým původem zkoumaného vzorku [81]. Celkové množství dusíku se v jednotlivých vzorcích pohybovalo mezi $1,59 \pm 0,04$ a $3,24 \pm 0,13 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Nejnižší množství dusíku obsahoval vzorek bulharské papriky Sweet Paprika Organic, nejvyšší množství dusíku obsahoval vzorek Fresh Spicy Paprika z Indie. Průměrné množství dusíku bylo v analyzovaných vzorcích $2,31 \pm 0,44 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Zjištěné hodnoty obsahu dusíku jednotlivých vzorků se mezi sebou na hladině významnosti 0,05 statisticky významně lišily ($P < 0,0001$). Vzorky byly pomocí Tukeyho testu rozříděny do několika skupin. Vyšší obsah dusíku obsahovaly především vzorky z Indie a vzorky Žitavské papriky ze Slovenska. Naproti tomu nižší množství dusíku obsahovaly vzorky z již zmíněného Bulharska a Turecka (Kirmizi pul Biber). Celkové množství dusíkatých sloučenin mimo jiné souvisí se způsobem pěstování, které se může v různých zemích odlišovat a to především složením a použitím hnojiva, ale i v jaké míře rostlina dusík za daných podmínek přijme [7].

Naměřené výsledky byly porovnány s českou Nutridatabází a dostupnou literaturou. Česká nutridatabáze udává obsah dusíku v mleté paprice $2,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [58]. Giuffrida a kol. (2013) při zkoumání paprik různého druhu stanovili průměrné množství dusíku u jimi zkoumaných vzorků $1,91 \pm 0,14 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ [82]. Tyto výsledky jsou v souladu s průměrným obsahem tuku v mleté paprice zjištěným v této dizertační práci.

5.3.7 Koncentrace sacharidů v mleté paprice

Sacharidy v paprice ovlivňují především její chuť, nicméně jsou v paprice velmi důležité při vývinu pylu a ovlivňují toleranci semen papriky vůči stresu z vysoušení [83][84][85]. Z jakostního hlediska je množství sacharidů u mleté papriky důležitý kvůli vývoji zracích procesů, kdy při posklizňovém vyzrání papriky dochází k syntéze karotenoidních barviv na úkor monosacharidů [83]. Koncentrace a poměr jednotlivých sacharidů v mleté paprice závisí nejen na technologickém zpracování papriky, skladování, ale také na pěstování a klimatických faktorech, jako je množství živin v půdě, pH půdy, teplota, osmotické prostředí aj. [86][87].

Nejvíce zastoupeným sacharidem byla **fruktosa**. Fruktosa je obvykle nejvíce zastoupeným sacharidem u mnoha druhů ovoce a zeleniny. Je to základní energetický sacharidický zdroj, který je v dráze glykolýzy [88]. Obsah fruktosy se ve vzorcích mleté papriky pohyboval od 4,94 do 107,70 mg·g⁻¹. Nejnižší koncentrace fruktosy byla stanovena u indického vzorku z oblasti Ghaptur. Nejvyšší koncentrace fruktosy byla stanovena u vzorku z Čínského města Ningxia. Průměrné množství fruktosy v analyzovaných vzorcích bylo 34,86 mg·g⁻¹. Zjištěné hodnoty obsahu fruktosy jednotlivých vzorků se mezi sebou na hladině významnosti 0,05 statisticky významně lišily (P<0,0001). Vzorky byly pomocí Tukeyho testu rozříděny do několika skupin. Vyšší koncentrace fruktosy byly stanoveny především u vzorků z Číny. Naproti tomu vzorky z Indie obsahovaly méně fruktosy. Fruktosa, podobně jako další monosacharidy, je během technologické fáze vyzrávání spotřebována na syntézu karotenoidních barviv [79]. U vzorků tak lze pozorovat, že vzorky, které obsahují více monosacharidů, tak byla stanovena nižší hodnota barvivosti ASTA.

Druhým nejvíce zastoupeným sacharidem byla **glukosa**. Glukosa vzniká v rostlinné tkáni díky fotosyntéze v chloroplastech. Obsah glukosy v mleté paprice se vlivem pěstování, zrání a technologického zpracování postupně mění, především na úkor vývoje karotenoidních barviv [89][90]. Obsah glukosy se v jednotlivých vzorcích pohyboval v rozmezí od 0,89 do 57,14 mg·g⁻¹. Nejnižší detekovatelná koncentrace glukosy byla stanovena u vzorku mleté papriky z indické oblasti Andra. V dalších 13 vzorcích mleté papriky byla koncentrace glukosy pod limitem kvantifikace (konkrétně oba vzorky z Turecka, všechny ostatní z Indie, a španělské vzorky z oblasti La Vera). Nejvyšší koncentrace glukosy byla stanovena u vzorku Ningxia Dirfood pocházejícího z Číny. Průměrné množství glukózy u analyzovaných vzorků mleté papriky bylo 18,54 mg·g⁻¹. Zjištěné hodnoty obsahu glukosy jednotlivých vzorků se mezi sebou na hladině významnosti 0,05 statisticky významně lišily (P<0,0001). Vzorky byly pomocí Tukeyho testu rozříděny do několika skupin. Vyšší koncentrace glukosy byly stanoveny především u vzorků z Číny. Naproti tomu vzorky z Indie a Turecka obsahovaly glukosu minimálně.

Posledním stanovovaným sacharidem byla **sacharosa**. Sacharosa je disacharid vznikající kondenzací glukosy a fruktosy. V paprice slouží jako zdroj energie a zároveň napomáhá osmoregulačním procesům v rostlině [87]. Koncentrace sacharosy se v jednotlivých vzorcích mleté papriky pohybovala od 0,48 do 4,76 mg·g⁻¹. Průměrné množství sacharosy u vzorků mleté papriky bylo 2,0 mg·g⁻¹. Nejnižší koncentrace byla zjištěna u vzorku mleté papriky Kirmizi Pul Biber z Turecka, nejvyšší koncentrace sacharosy byla stanovena ve vzorku Žitavské papriky mleté. Zjištěné hodnoty obsahu sacharosy jednotlivých vzorků se mezi sebou na hladině významnosti 0,05 statisticky významně nelišily (P>0,05). Vzorky byly pomocí Tukeyho testu rozříděny do několika skupin.

Získané výsledky byly porovnány s údaji uvedenými v české databázi potravin Nutridatabáze a s dostupnou literaturou. Obsah fruktosy v mleté paprice databáze udává 77,0 mg·g⁻¹, obsah glukosy 30,0 mg·g⁻¹ a obsah sacharosy 7,0 mg·g⁻¹ [58]. Podobných výsledků, jakých bylo dosaženo v této dizertační práci, dosáhli Mo et. al. (2015), kteří udávají koncentraci fruktosy 7,6 mg·g⁻¹, glukosy 6,5 mg·g⁻¹ a sacharosy 0,1 mg·g⁻¹ [91]. Odlišné výsledky publikovali Speranza et. al. (2019) a Kim et. al. (2011). Speranza uvádí průměrné

koncentrace fruktosy $177 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a glukosy $109 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ [86]. Kim uvádí podobné koncentrace; výsledná koncentrace fruktosy byla $203,17 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, glukosy $198,07 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a sacharosy $42,75 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ [92].

5.3.8 Prvková analýza mleté papriky

Stanovení obsahu minerálních látek ve vzorku papriky je jedním z účinných nástrojů posouzení původu vzorku papriky. Množství minerálních látek úzce souvisí nejen s druhem papriky, ale i s půdou, ve které se rostlina pěstuje a tedy i na geografické poloze [20][70].

Pomocí metody ICP-OES byla provedena prvková analýza 8 prvků ve 37 vzorcích mleté papriky. Analyzovanými prvky byly vápník, draslík, hořčík, sodík, měď, železo, fosfor a zinek. Výběr prvků byl proveden na základě porovnání s literaturou, aby výběr prvků co nejlépe reflektoval geografický původ zkoumaného vzorku [20].

Z analyzovaných prvků byl ve vzorcích mleté papriky nejvíce zastoupený **draslík**. Draslík má obecně funkci vyrovnávání osmotického tlaku a iontové rovnováhy na povrchu buněčné membrány. Zároveň se podílí na aktivaci některých enzymů, jako jsou synthasa škrobu, ATPasa protonové pumpy aj. Koncentrace draslíku se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $9,94\pm 0,01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a $26,37\pm 0,16 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace činila $16,49 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Jak již bylo zmíněno v předchozích kapitolách, hlavní úlohou **fosforu** je přenos energie, případně regulace metabolických drah skrze fosforylaci sloučenin. Fosfor patří mezi základní složky minerálních hnojiv typu NPK, jeho koncentrace v rostlině je klíčová pro zdravý vývoj a růst rostliny. Koncentrace fosforu se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $1,51\pm 0,01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a $3,76\pm 0,02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace fosforu činila $2,54 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Vápník se v rostlinné tkáni může nacházet v různých vázaných formách. Iontově se váže například ve strukturách buněčné stěny na polygalakturonovou kyselinu (pektin), ale velké koncentrace vápníku jsou soustředěny i v plasmatických membránách některých buněčných organel, jako je endoplasmatické retikulum, nebo vakuola. Důležitou je funkce volných vápenatých iontů jakožto druhých posílů. Koncentrace vápníku se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $0,56\pm 0,02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a $3,66\pm 0,03 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace vápníku činila $1,75 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Hořčík je centrálním atomem zeleného barviva chlorofylu. Nicméně díky svým vlastnostem funguje jako vazebný element na ribosomatické podjednotky a je má nedílnou funkci při syntéze proteinů. Nedostatek hořčíku v rostlinné tkáni má pak za následek i zhoršenou syntézu dalších plastidových pigmentů, nejen chlorofylu. Koncentrace hořčíku se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $1,286\pm 0,040 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a $2,919\pm 0,039 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace hořčíku činila $1,977 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Přestože koncentrace **sodíku** nebývají v rostlinách příliš vysoké, experimenty potvrdily, že patří mezi esenciální prvky. Role sodíku v rostlinné tkáni je především regulace osmózy a nachází se především na povrchu buněčných membrán, podobně jako draslík. Koncentrace sodíku se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $0,19\pm 0,01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a $1,61\pm 0,03 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace sodíku činila $0,52 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Železo se díky svým vlastnostem účastní redoxních dějů v rostlinných tkáních. Klíčovou roli hraje v železo-suírných proteinech, jako je ferredoxin, superoxid dismutasa, nebo akonitasa. Koncentrace železa se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $0,059 \pm 0,01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a $0,502 \pm 0,029 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace železa činila $0,167 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

Zinek je součástí celé řady enzymů, a zároveň funguje jako aktivátor mnoha dalších enzymů. Jakou součást zinc-finger proteinů se podílí na genové expresi a má tak zásadní vliv na syntézu proteinů. Koncentrace zinku se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $9,55 \pm 0,03 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ a $23,98 \pm 0,13 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace zinku činila $16,49 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

Nejméně zastoupeným prvkem byla **měď**. Měď slouží v rostlinné tkáni, podobně jako železo, k formaci komplexních sloučenin a k přenosu elektronů. Díky této vlastnosti je měď kofaktorem celé řady enzymů, jako je cytochrom oxidasa, superoxid dismutasa, diamin oxidasa, fenol oxidasa aj. Koncentrace mědi se ve vzorcích mleté papriky pohybovala mezi $8,21 \pm 0,11 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ a $18,96 \pm 0,06 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Průměrná koncentrace mědi činila $11,34 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

Celkově byl na obsah minerálních látek nejbohatší vzorek španělské papriky Pimentón de la Vera dulce. Naopak nejméně minerálních látek obsahoval vzorek Gaotai Hongfeng z čínského Zhangye. Naměřená data byla porovnána s výsledky uvedenými v literatuře (viz Tabulka č. 7).

Na základě analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti 0,05 bylo zjištěno, že mezi honodatmi koncentrace fosforu ($P=0,0023$), vápníku ($P=0,0245$), mědi ($P=0,0371$) a sodíku ($P=0,0198$) jednotlivých vzorků byl statisticky významný rozdíl. Pomocí Tukeyho testu byly tyto vzorky rozříděny do několika skupin podle koncentrace konkrétního prvku.

Tabulka č. 7 – Koncentrace sodíku, draslíku, hořčíku, vápníku, fosforu, železa a zinku ve vzorcích česneku publikované jinými autory

	Na ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	K ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	Mg ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	Ca ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	P ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	Fe ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
USDA [80]	0,68	22,8	1,78	2,29	3,14	0,21	-	43,3
Maďarsko [20]	-	-	1,85	1,31	-	0,066	8,4	14,5
Španělsko [20]	-	-	1,83	1,22	-	0,191	9,3	24,6
Rumunsko [20]	-	-	2,04	2,47	-	0,646	10,5	20,9
Čína [20]	-	-	2,53	2,08	-	0,796	10,6	20,5
Murcia (ESP) [93]	0,51	15,69	2,01	1,95	3,40	0,23	20,3	43,3
La Vera (ESP) [93]	0,33	14,73	2,19	1,90	3,61	0,19	11,6	35,7

5.3.9 Statistické zpracování naměřených dat

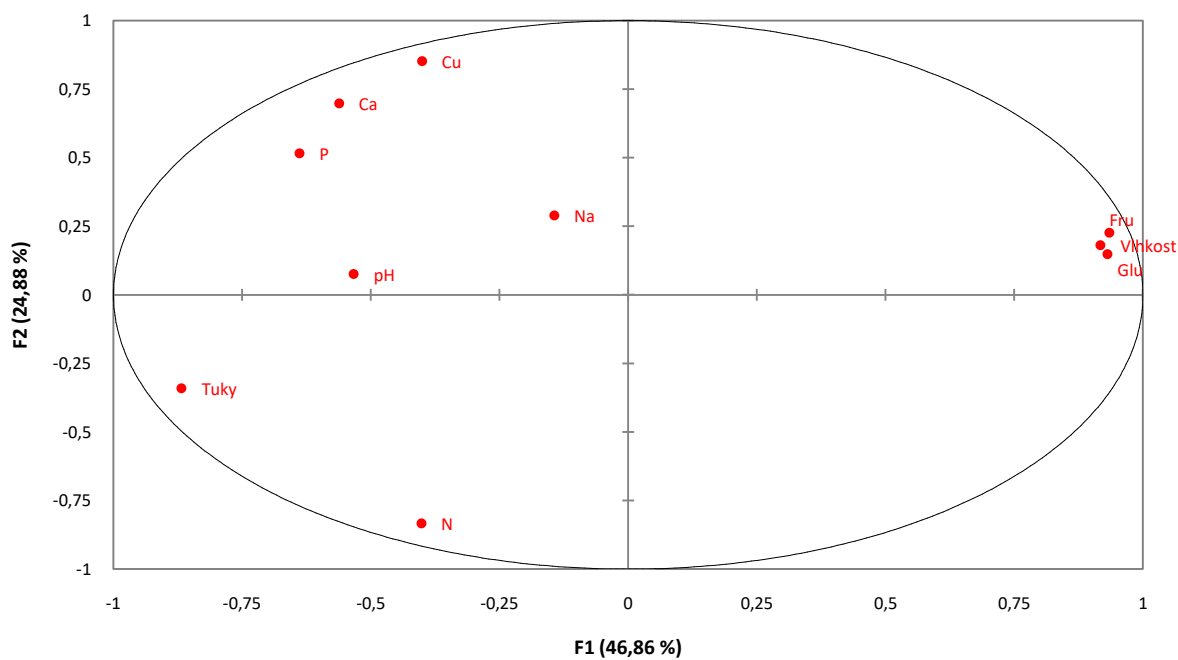
Získaná data byla statisticky zpracována pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti 0,05 a analýzy hlavních komponent (PCA). Pomocí ANOVA bylo z celkových 17 parametrů vybráno 10 vybraných parametrů, ve kterých se jednotlivé vzorky mleté papriky od sebe vzájemně statisticky liší. Vybranými parametry byly vlhkost ($P < 0,0001$), pH vodného extraktu ($P = 0,0118$), celkové množství tuků ($P < 0,0001$), dusíku ($P < 0,0001$), koncentrace fruktosy ($P < 0,0001$), glukosy ($P < 0,0001$), vápníku ($P = 0,0245$), sodíku ($P = 0,0198$), fosforu ($P = 0,0023$) a koncentrace mědi ($P = 0,0371$). Tyto proměnné byly následně vybrány do PCA, kde byly zredukovány do 3 hlavních komponent s eigenvalue > 1 , kde hlavní komponenty F1 a F2 tvořily 71,74 % variability původního data setu. Komponenta F1 byla silně pozitivně korelována vlhkostí vzorku a koncentracemi glukosy a fruktosy. Dále byla pozorována silně negativní korelace komponenty F1 s hodnotou pH, množstvím tuků, koncentracemi vápníku a fosforu. Negativní korelace komponenty F1 byla pozorována u celkového množství dusíku, koncentrace sodíku a mědi. Komponenta F2 byla silně pozitivně korelována koncentracemi vápníku, fosforu a mědi. Další pozitivní korelace s komponentou F2 vykazovala celková vlhkost, hodnota pH, koncentrace fruktosy, glukosy a sodíku. Byla pozorována také silná negativní korelace komponenty F2 s celkovým obsahem dusíku. Další negativní korelace byla pozorována mezi komponentou F2 a celkovým obsahem tuků.

Proměnné korelovaly také mezi sebou. Pozitivní korelace byla pozorována mezi vlhkostí vzorku a koncentracemi glukosy ($R = 0,8323$) a fruktosy ($R = 0,8567$). Pozitivní korelace ($R = 0,9673$) byla pozorována i mezi fruktosou a glukosou mezi sebou. Tyto pozitivní korelace mohou souviset s tím, že glukosa a fruktosa jsou základní monosacharidy účastníci se glykolózy. Zároveň při zvýšené vlhkosti papriky se stabilizují organické látky v mleté paprice [79], což vysvětluje korelace koncentrace sacharidů s vlhkostí vzorku.

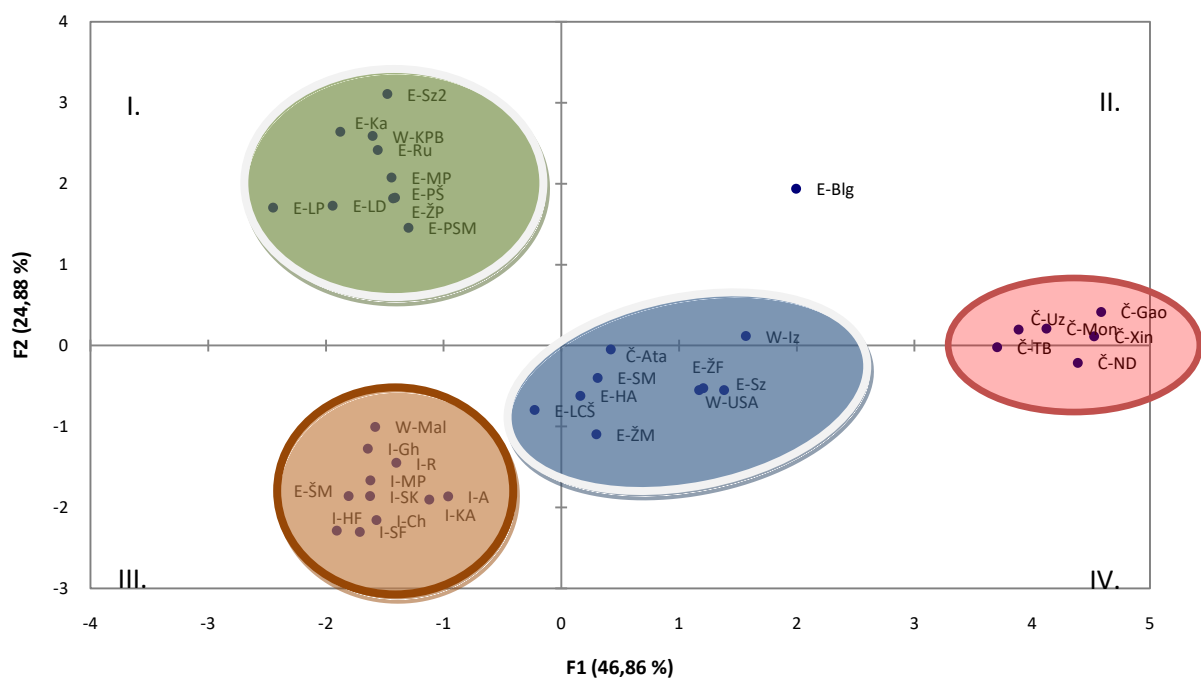
Vlhkost vzorku negativně korelovala s hodnotou pH ($R = -0,4729$), celkovým množstvím tuků ($R = -0,8368$), dusíku ($R = -0,4951$) a koncentracemi vápníku ($R = -0,3779$) a fosforu ($R = -0,5175$). Fruktosa negativně korelovala s pH ($R = -0,3795$), celkovým obsahem tuků ($R = -0,8940$), celkovým množstvím dusíku ($R = -0,5157$), koncentracemi vápníku ($R = -0,4041$) a fosforu ($R = -0,4168$). Glukosa negativně korelovala s celkovým množstvím tuků ($R = -0,8445$), dusíku ($R = -0,4636$) a koncentracemi vápníku ($R = -0,4041$) a fosforu ($R = -0,4899$).

Naproti tomu celkový obsah tuků pozitivně koreloval s hodnotou pH ($R = 0,3839$) a celkovým obsahem dusíku ($R = 0,5716$). Tuky se skládají z mastných kyselin, které mají kyselý vodík, což vysvětluje korelaci s pH. Korelace celkového obsahu tuků a dusíku lze vysvětlit kvalitou zkoumaného materiálu, kdy vzorky s vyšším množstvím tuků a dusíku byly bohaté i na další biologicky aktivní látky. Pozitivní korelace byla pozorována mezi pH a koncentrací fosforu ($R = 0,3277$).

Pozitivní korelace byla pozorována u koncentrace vápníku s koncentracemi fosforu ($R = 0,6294$) a mědi ($R = 0,7408$). Měď a fosfor spolu také vykazovali pozitivní korelaci ($R = 0,7481$). Tyto pozitivní korelace mohou souviset ať už s biologickou funkcí jednotlivých prvků (vápník, fosfor i měď se podílejí na výstavbě rostlinných tkání), tak i s hnojením a úpravami půdy, kde byla paprika pěstována.



Obrázek č. 3 – Projekce proměnných do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2



Obrázek č. 4 – Projekce proměnných do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2

Nejlépejší možné grafické zobrazení vztahů mezi jednotlivými vzorky je jejich projekce do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2 (viz **Obrázek č. 3** a **Obrázek č. 4**).

Vzorky byly rozděleny celkově do 4 klastrů. První klastř (zvýrazněn zelenou barvou) se nachází v 1. Kvadrantu. Tento klastř je negativně korelován komponentou F1, pozitivně komponentou F2, a je tvořen především vzorky z Evropy. Druhý klastř (zvýrazněn červenou barvou) je pozitivně korelován komponentou F1, slabě pozitivně korelován komponentou F2, a zahrnuje vzorky z Číny. Ve 3. kvadrantu se nachází třetí klastř (zvýrazněn oranžovou barvou). Třetí klastř je negativně korelován komponentou F1, negativně korelován komponentou F2, a je tvořen vzorky především z Indie. Čtvrtý klastř (zvýrazněn modrou barvou) se nachází ve čtvrtém kvadrantu. Čtvrtý klastř je slabě pozitivně korelován komponentou F1 a slabě negativně korelován komponentou F2. Zde se nachází částečně vzorky z Evropy, ale i vzorky z jiných částí světa (USA, Maroko, Čína).

Specifika různých kombinací pozorování a parametrů jednotlivých vzorků a jejich proměnných lze pozorovat ve dvourozměrné projekci (obrázky 1 a 2). Vzorky vyprojektované v prvním klastru vykazují vyšší koncentrace jednotlivých prvků (proto krom evropských vzorků se v klastru nachází i vzorek Kirmizi pul Biber z Turecka). Vzorky, které byly zobrazeny ve třetím kvadrantu, proti tomu vykazují vyšší obsah celkových tuků a dusíku (spolu se vzorky z Indie je zde vyprojektován i vzorek Malatya Pazari z Turecka). Naproti tomu obsahují tyto zmíněné vzorky mnohem nižší koncentrace sacharidů a mají nižší obsah vlhkosti. Vzorky, které byly na sacharidy bohaté, byly vyprojektovány v pravé hemisféře, na hranici druhého a čtvrtého kvadrantu (vzorky z Číny). Vzorky dosahující průměrných hodnot sledovaných parametrů byly zobrazeny v posledním klastru ve střední části dvourozměrné faktorové roviny.

5.4 Necílená analýza vzorků mrkve pocházejících z různých oblastí Rakouska

V současné době jsou necílené techniky v oblasti analýzy potravin na vzestupu, protože se ukazují být účinným nástrojem pro odhalování falšování potravin a lze je často použít přímo v terénu, neboť se často jedná o tzv. nedestruktivní techniky. Cílená analýza, tj. sledování konkrétního ukazatele v potravinách se také pro průkaz falšování potravin stále používá, ale její využití je omezeno výhradně na prostředí analytické laboratoře. Necílená analýza se skládá z kompletního sledování zkoumané matrice a výstupem necílené analýzy je celková analytická stopa analytů, tzv. fingerprint, neboli otisk prstu. V analýze potravin se často používá pojem food fingerprint. Protože se analýza otisku prstu zabývá sledováním malých molekul, jenž jsou metabolity příslušného biologického systému, je necílená analýza velmi podobná tzv. metabolomice používané např. v klinické praxi. Pro pojem food metabolomics se také často využívá zkráceného pojmu foodomics [94]

Jak již bylo zmíněno, jediný otisk prstu se získá jako funkce komplexní chemické struktury nebo fyzikální vlastnosti potraviny. Otisk prstu se skládá ze stovek až tisíců proměnných, ze složitých, vzájemně korelovaných dat a samotný otisk prstu obvykle není okamžitě k dispozici pro analytické účely. Soubor spektrálních dat vyžaduje komplexní statistickou/matematickou analýzu s cílem získat relevantní informace vztahující se k chemickým analýzám. Obecně jsou tyto používané multi-varietní analytické metody definovány jako chemometrie. Spektrální data v kombinaci s chemometrií umožňují vyvíjet analytické metody kvantitativní a kvalitativní analýzy napomáhající identifikovat rozdíly v kvalitě koření v důsledku podvodů s potravinami souvisejícími s kontaminací potraviny,

použitím jiného zemědělského systému, deklarováním nesprávného zeměpisného původu nebo genetické/kultivarové odrůdy apod.[95].

Chemometrické postupy používané při kontrole koření lze nejčastěji podle příslušných zkoumaných účelů rozdělit do následujících kategorií: (1) předzpracování dat, (2) průzkumná analýza, (3) diskriminační/klasifikační vícerozměrná analýza, (4) predikční/regresní vícerozměrná analýza a (5) fúze dat.

V této disertační práci bylo zkoumáno použití necílené analýzy k ověření geografického původu mrkve. Mrkev se svou roční produkcí 428 milionů tun řadí mezi deset nejvíce pěstovaných druhů zeleniny na světě. Proto se některé státy, jako je Rakousko, rozhodly podpořit vlastní produkci mrkve. V Rakousku byly vytvořeny tzv. „Genussregionen“, které mají za úkol zmapovat hlavní pěstební oblasti a suroviny v Rakousku, kvůli cílené podpoře vlastního trhu. Mrkve bylo dle AMA (*AgrarMarkt Austria*) v Rakousku v roce 2017 vyprodukováno 97 813 t. Lze ji tedy považovat za vhodnou modelovou surovinu pro studium geografické autenticity [15].

5.4.1 Předzpracování LC-TOF-MS spekter

Pomocí metody LC-TOF-MS byla získána hmotnostní spektra 75 vzorků mrkve, 15 směsných vzorků z pěti zkoumaných oblastí (qc vzorky regionu) a 3 kontrolní směsné vzorky celého data setu (QC vzorky). Extraktů získaných LC-TOF-MS spekter bylo získáno celkem 1563 záznamů (*features*), jejichž počet bylo potřeba před statistickým zpracováním zredukovat.

Získaná hrubá data byla zpracována metodou **dávkové rekurzivní extrakce** (BRE = *batch recursive feature extraction*). BRE zahrnovala dvě fáze – MFE (*molecular feature extraction* = extrakce molekulárních píků) a FbI (*batch find by ion feature extraction* = výběr skupiny podle extrahovaných iontových fragmentů).

V první fázi dochází k extrakci *molecular features*, tedy sloučenin. MFE provádí dekonvoluci chromatogramů s cílem nalezení individuálních sloučenin ve vzorcích (*peak picking*) a sumarizuje veškeré programem získané informace o každém vzorku se zohledněním přesnosti hmotnostně spektrometrického měření, seskupení iontů podle náboje, profilu isotopologů a přítomnosti aduktů nebo dimerů. Následně jsou tyto molekulární prvky porovnány ve všech vybraných vzorcích na základě molekulové hmotnosti a retenčního času (RT).

V druhé fázi se hledá shoda získaných prvků na základě iontových prvků. Po výpočtu střední hmotnosti, středního retenčního času a složení spektra z porovnaných píků/prvků nalezených pomocí MFE, FbI použije střední hodnoty k provedení cílené extrakce píků, aby se zvýšila spolehlivost extrakce molekul v komplexních souborech dat.

Pro účely BRE byly vzorky seskupeny a zarovnány, poté byla zkontrolována kvalita softwarová extrakce píků s využitím definovaného rozmezí (okna) retenčních časů ($\pm 0,15$ min) a poměrů hmotnost/náboj (20 ppm; $\pm 2,0$ mDa). Pro všechny sloučeniny byly pak zobrazeny (extrahovány) fragmentogramy (=extrahované chromatogramy) se symetrickými extrakčními okny ($m/z \pm 35$ ppm a očekávaný retenční čas $\pm 0,75$ min). Aby mohl být nalezený pík považován za sloučeninu, která je předmětem zájmu pro další statistické zpracování, byl

nastaven požadavek na vzhled molekulárních znaků shodný ve všech vzorcích s MFE kritérii a cílovým skóre vyšším než 70 %. Celková koncentrace sloučeniny byla poté vypočtena jako součet ploch pocházejících ze všech příslušných iontových fragmentů.

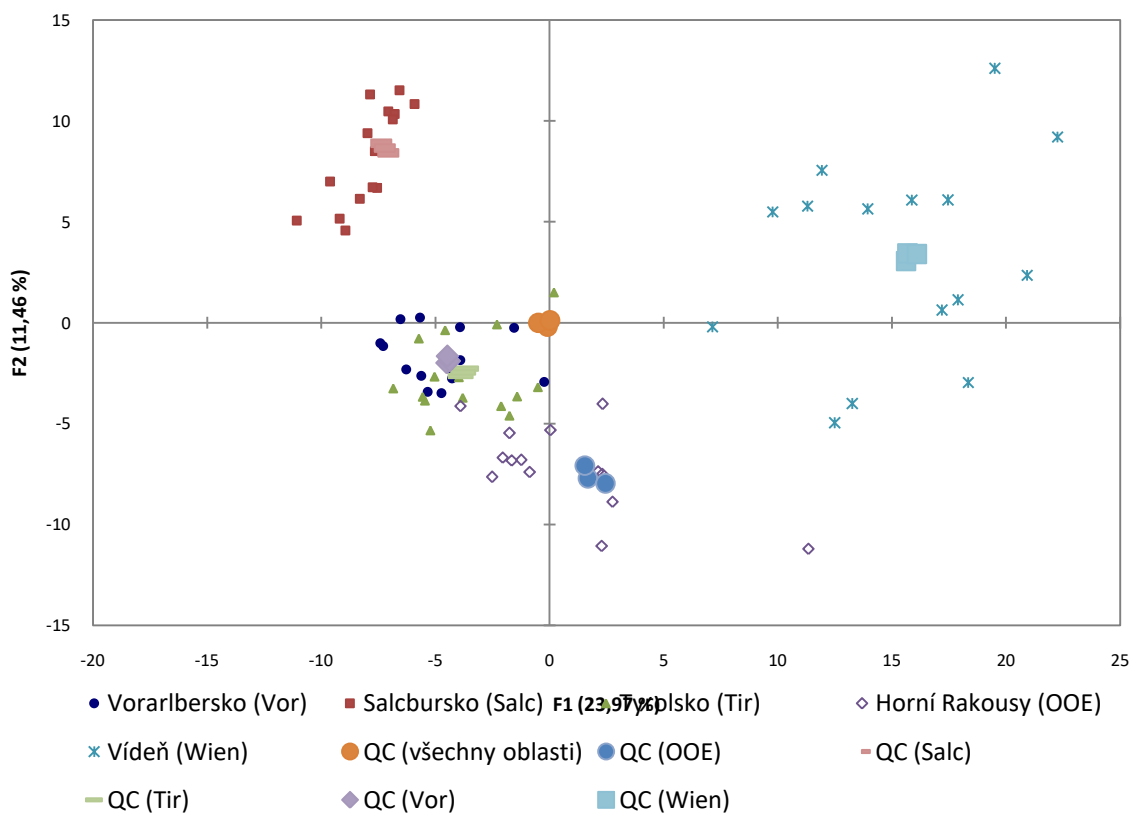
Nezpracovaná (surová, původní, originální) data byla následně zpracována pomocí softwaru Progenesis QI, kdy bylo provedeno zarovnání retenčního času napříč všemi vzorky; následoval výběr píků a automatická dekonvoluce aduktů sloučenin. Použitý algoritmus pro výběr píku nebyl omezen na úroveň citlivosti, chromatografickou šířku píku, ani okno retenčního času. Retenční časy byly zarovnány s nejvhodnějším QC vzorkem, zatímco všechny ostatní analýzy byly normalizovány pomocí vypočteného škálovacího faktoru. V Progenesis QI byly vybrány píky, jejichž výskyt byl v souladu s následujícími podmínkami: minimální dvojnásobná změna (fold change) výskytu prvku/píku mezi skupinami, maximální směrodatná odchylka 30% v rámci skupiny, analýza rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti 0,05 a hodnota q popisující pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků pod 0,1%.

5.4.2 Vícerozměrná analýza získaných dat

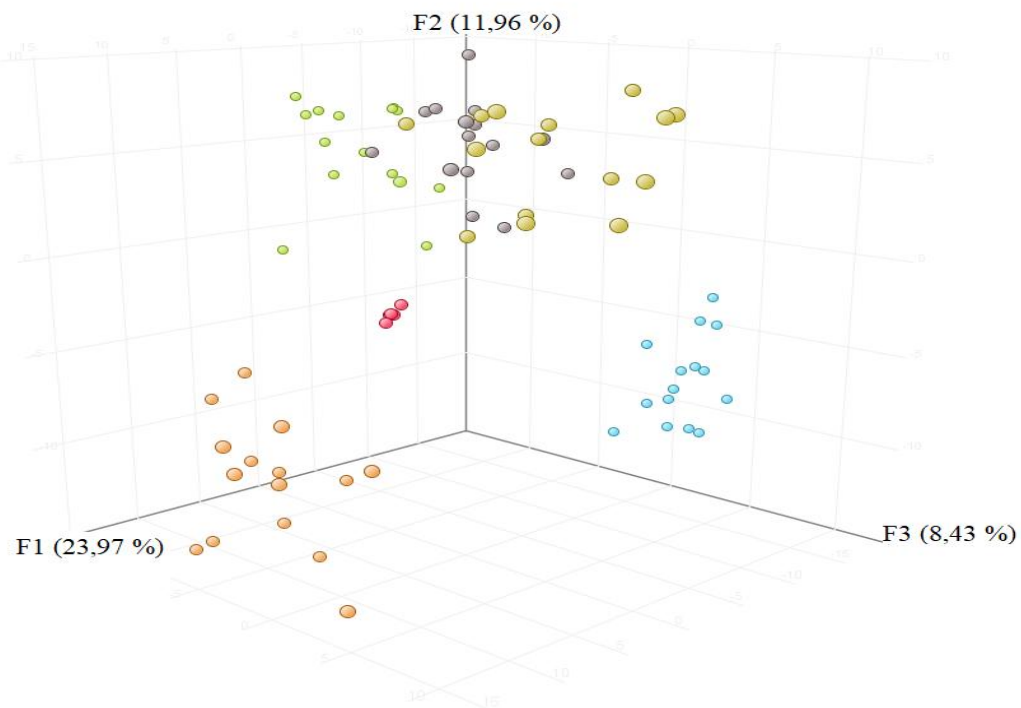
Z původních 1563 záznamů byl data set zredukován na celkových 297 záznamů, přítomných v minimálně dvou třetinách z celkových 93 vzorků (75 vzorků mrkví z 5 oblastí, 15 QC směsných vzorků z každé z 5 oblastí a 3 QC směsné vzorky ze všech oblastí a vzorků). Těchto 297 vyextrahovaných záznamů bylo následně použito do vícerozměrné analýzy. Pomocí PCA byla získaná data zredukována do několika hlavních komponent, přičemž první 3 hlavní komponenty zahrnovaly 43,85 % variability původních dat.

Na základě získaných dat byly vzorky vyprojektovány nejdříve do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2. Jednotlivé vzorky mrkví byly díky PCA úspěšně rozděleny do několika klastrů na základě svého geografického původu s tím, že k úplnému oddělení klastrů nedošlo v případě vzorků z Tyrolska, Horních Rakous a Vorarlberska (viz. **Obrázek č. 5**). V centru každého klastru se nacházejí barevně odlišené vzorky, které jsou tvořeny směsnými qc vzorky z jednotlivých regionů. Uprostřed celé projekce jsou pak zobrazeny směsné QC vzorky, které byly vytvořeny smícháním vzorků ze všech zkoumaných regionů. Projekce těchto QC vzorků ve středu každého klastru a uprostřed projekce naznačuje stabilitu experimentu v průběhu jeho měření i vyhodnocení. Pro lepší zobrazení a úplnou přehlednost byla pomocí komponent F1, F2 a F3 zároveň vytvořena trojrozměrná projekce, kde jsou všechny popisované jevy znovu potvrzeny (viz. **Obrázek č. 6**).

Následně byla provedena diskriminační analýza, predikční analýza pomocí pomocí SIMCA, a fúze metabolomických dat s výsledky elementární analýzy a analýzy poměrů izotopů stroncia. Nicméně tato část práce nebyla předmětem této disertační práce, proto zde nejsou uvedeny její výsledky. Výsledky z DA, SIMCA a fúze dat byly publikovány ve společné práci Jandrić et. al. (2020) [15].



Obrázek č. 5 – Projekce proměnných do dvourozměrné faktorové roviny komponent F1 a F2



Obrázek č. 6 – Zobrazení proměnných do 3D projekce komponent F1, F2 a F3

6 ZÁVĚR

Pomocí kombinace chemických a instrumentálních technik a chemometrie byla ověřena použitelnost vybraných cílených a necílených analytických technik při posuzování autenticity vybraných druhů koření. Bylo zkoumáno, zda existují mezi vzorky pocházejícími z různých geografických oblastí statisticky významné rozdíly, a lze je od sebe rozlišit pomocí jednorozměrné (ANOVA) a vícerozměrné (PCA) statistické analýzy.

V případě vzorků česneku nelze hypotézu ověřovanou v této dizertační práci na základě získaných výsledků jednoznačně potvrdit, nicméně ani vyvrátit. Zatímco v případě univarietního vyhodnocení pomocí ANOVA byly v rámci jednoho parametru nalezeny statisticky významné rozdíly, vícerozměrná analýza pomocí PCA vzorky podle svého geografického původu dostatečně spolehlivě nerozdělila. Hlavním problémem který byl identifikován při ověřování hypotézy, byla nespolehlivost údajů o zemi původu získaných vzorků k analýze, různý stav vzorků použitý k analýze a celkově nedostatek vzorků k analýze. Původní předpoklad spolupráce subjektů obchodující s česnekem se nepodařilo naplnit, což prokázalo, že problematika autenticity česneku je velmi citlivé téma. Tento problém lze ilustrovat na příkladu tzv. českého česneku, který se svojí cenou výrazně liší od česneku dováženého z jiných zemí.

Stejný přístup, který byl použit u česneku, byl následně aplikován na vzorcích mleté papriky různého geografického původu. Podobně jako v případě česneku ani zde se nepovedlo spolehlivě ověřit hypotézu, že použití metod cílené analýzy umožňuje spolehlivé rozlišení vzorků mleté papriky podle země původu. Z výsledků je patrné, že vzorky pocházející z navzájem vzdálených oblastí (např. Čína vs. Indie vs. Evropa) je možné tímto přístupem od sebe odlišit, nicméně u vzorků které mají méně vzdálenou zemi původu (např. v rámci Evropy) je vzájemné rozlišení pomocí použitého přístupu složitější. I v případě mleté papriky lze konstatovat, že prováděnému experimentu by výrazně pomohla spolupráce se subjekty obchodujícími s kořením a je možné, že získáním více vzorků s informací o zemi původu by se podařilo zvýšit efektivitu aplikovaného chemometrického postupu a rozlišit od sebe i vzorky papriky z bližších regionů.

Při posuzování autenticity rakouských mrkví bylo zjištěno, že necílená metabolomická analýza je schopna rozlišit vzorky pocházející z různých geografických oblastí (93-100 % úspěšnost). Nicméně k úplnému rozdělení vzorků v dvourozměrné faktorové rovině hlavních komponent v PCA nedošlo v případě vzorků pocházejících z Tyrolska, Horních Rakous a Vorarlberska. K lepšímu rozdělení a případně vytvoření klasifikačních modelů je zapotřebí použít a aplikovat spolu s necílenou metabolomickou analýzou ještě další doplňující analytickou techniku, která zpřesní celou analýzu. Samotná metabolomická analýza má totiž při určování geografického původu vzorku několik úskalí. Může to být výběr piků, vstupujících do statistické analýzy, způsob zpracování dat, robustnost analýzy, spolehlivost dat, ale i také parametry, jako jsou odrůdové rozdíly, nebo rozdíly mezi různými ročníky dané rostliny. V případě potravinářských vzorků je kombinace různých analytických technik pro následnou klasifikaci vždy spolehlivější [96]. Je výhodné proto při určování geografické autenticity vzorků použít další techniky, jako je analýza poměru izotopů stroncia, nebo prvková analýza. Samotná analýza poměru izotopů stroncia není schopna (podobně jako

metabolická analýza) bezpečně odlišit vzorky pocházející z různých částí Rakouska. Nicméně v kombinaci s prvkovou analýzou poskytuje dostatečně silný predikční model. Úspěšnost takového predikčního modelu se pohybuje mezi 97-100 %. Ovšem v kombinaci s vybranými metabolity z metabolické analýzy získává tento predikční model ještě na větší přesnosti, a to až >99 %. Na příkladu analýzy vzorků mrkve lze mimo jiné vidět, jakou roli hraje v celkovém přístupu ověřování autenticity pomocí cílených nebo necílených analýz ověřený původ vzorku. Jak již bylo zmíněno, právě nedostatek ověřených vzorků při analýze česneku a mleté papriky neumožnil zcela ověřit platnost zkoumané hypotézy, že pomocí cílených analýz lze dosáhnout ověření geografického původu vzorku.

Zatímco se v současné době necílené analýze věnuje mnohem větší pozornost, cílené techniky jsou při ověřování geografického původu různých komodit upozaděny, i když za vhodných podmínek lze cílenou analýzu použít při ověřování geografické autenticity různých druhů koření a kořenících přípravků. Díky využití dobře známých chemických a analytických technik může cílená analýza konkurovat necílené analýze, pro kterou je potřeba využít pokročilé, ale finančně nákladné techniky. Úspěšnost použité cílené analýzy je však zásadně ovlivněna informacemi o původu vzorku a dostatkem dat pro statistickou analýzu, které umožní vytvoření účinného klasifikačního modelu.

Nedostatek dat naopak není limitující pro necílenou analýzu, která sama o sobě generuje velké množství informací. Ovšem o to důslednější musí být práce s analytickými daty, aby byly ze statistické analýzy vyloučeny falešně pozitivní výsledky. Více parametrů různého druhu použitých ve statistické analýze je schopno zpřesnit tuto analýzu [97], nicméně řízené statistické techniky poté nesou i riziko následného přehlcení modelu velkým množstvím dat [31]. Aby nedošlo k přehlcení statistického modelu, je potřeba dostatečná redukce dat, aby došlo i k redukci náhodné variability. Ideální je výběr těch proměnných, které mají nejvyšší příspěvek do odlišení skupin vzorků.

Jak již bylo naznačeno, velkou výzvou podobné studie je samotné získání vzorků s ověřeným původem, protože téma geografické autenticity je především v Evropě velmi citlivé. Zatímco u některých komodit je autentifikační metodika poměrně podrobně vypracovaná, u mnoha jiných produktů (jako je třeba česnek nebo mletá paprika) tato metodika chybí. Mnoho dodavatelů se spoléhá na spotřebitelský trh, který subjektivně považuje lokální produkt za lepší. Nicméně objektivní laboratorní zhodnocení přidané hodnoty lokálního produktu stále chybí, a spolupráce na podobných studiích zemědělece a dodavatele koření do České republiky od takové práce odrazuje. Hlavním důvodem je obava o ztrátu dobrého jména firmy, přestože k žádnému falšování nedochází. Získat tedy dostatečné množství vzorků s ověřeným původem z více světových oblastí může být problematické. Nicméně díky této disertační práci byla s některými dodavateli navázána bližší spolupráce a existuje tedy velký potenciál provést rozsáhlejší studii.

Přínos této disertační práce pro praxi lze dokumentovat na uzavření dohody o spolupráci s firmou, která obchoduje s českým česnekem, tedy s českými odrůdami česneku vypěstovanými v České republice. Na základě prezentace dosažených výsledků v rámci odborné komunity došlo ke kontaktu s touto firmou a je pravděpodobné, že se dosavadní práce bude dále rozvíjet. Pokud by se podařilo spolehlivě na základě provedených

chemických analýz odlišit pravý český česnek od česneku dováženého z jiných zemí do ČR, představovalo by to pro zmíněnou firmu výraznou konkurenční výhodou na trhu.

7 LITERATURA

- [1] REINHOLDS, Ingars, Vadims BARTKEVICS, Isabelle C.J. SILVIS, Saskia M. VAN RUTH a Susanne ESSLINGER. Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015, **44**, 56-72. ISSN 08891575.
- [2] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška o požadavcích na koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky, ochucovadla, studené omáčky, dresinky a hořčici. In: Praha: AION CS, 2016, ročník 2016, 162/2016, 398/2016 Sb.
- [3] SILVIS, I.C.J., S.M. VAN RUTH, H.J. VAN DER FELS-KLERX a P.A. LUNING. Assessment of food fraud vulnerability in the spices chain: An explorative study. *Food Control*. 2017, **81**, 80-87. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.05.019. ISSN 09567135.
- [4] KUCHARSKA-AMBROŽEJ, Kamila a Joanna KARPINSKA. The application of spectroscopic techniques in combination with chemometrics for detection adulteration of some herbs and spices. *Microchemical Journal*. 2020, **153**. ISSN 0026265X.
- [5] GALVIN-KING, Pamela, Simon A. HAUGHEY a Christopher T. ELLIOTT. The Detection of Substitution Adulteration of Paprika with Spent Paprika by the Application of Molecular Spectroscopy Tools. *Foods*. 2020, **9**(7) [cit. 2021-03-09]. ISSN 2304-8158.
- [6] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: Technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2009. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-051-4.
- [7] EDITED BY K.V. PETER. *Handbook of herbs and spices*. 2nd ed. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2001. ISBN 1855735628.
- [8] DI ANIBAL, C. V., M. ODENA, I. RUISÁNCHEZ a M. P. CALLAO. Determining the adulteration of spices with Sudan I-II-II-IV dyes by UV-visible spectroscopy and multivariate classification techniques. *Talanta*. 2009, **79**(3), 887-892. ISSN 00399140.
- [9] KONVIČKA, Oldřich. Česnek: (*Allium sativum* L.) : základy biologie a pěstování, obsahové látky a léčivé účinky. Olomouc: O. Konvička, 1998. ISBN 80-238-1928-3.
- [10] AMAGASE, H., B. L. PETESCH, H. MATSUURA, S. KASUGA. Intake of Garlic and Its Bioactive Components. *The Journal of Nutrition*. 2001, **131**(3), 955S-962S.
- [11] MARSCHNER, Horst. *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd ed. London: Academic Press, 1995. ISBN 9780124735422.
- [12] ISIDORO, EDITH, DONALD J. COTTER, GEORGE C.J. FERNANDEZ a G. MORRIS SOUTHWARD. Color Retention in Red Chile Powder as Related to Delayed Harvest. *Journal of Food Science*. 1995, **60**(5), 1075-1077
- [13] AHMAD, CAWOOD, IQBAL, ARIÑO, BATOOL, TARIQ, AZAM a AKHTAR. Phytochemicals in *Daucus carota* and Their Health Benefits-Review Article. *Foods*. 2019, **8**(9) [cit. 2020-11-11]. ISSN 2304-8158.

- [14] CUBERO-LEON, Elena, Rosa PEÑALVER a Alain MAQUET. Review on metabolomics for food authentication. *Food Research International*. 2014, **60**, 95-107. ISSN 09639969
- [15] JANDRIC, Z., A. TCHAIKOVSKY, A. ZITEK, T. CAUSON, V. STURSA, T. PROHASKA a S. HANN. Multivariate modelling techniques applied to metabolomic, elemental and isotopic fingerprints for the verification of regional geographical origin of Austrian carrots. *Food Chemistry*. 2021, **338**. ISSN 03088146.
- [16] SHARMA, Krishan Datt, Swati KARKI, Narayan Singh THAKUR a Surekha ATTRI. Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review. *Journal of Food Science and Technology*. 2012, **49**(1), 22-32. ISSN 0022-1155.
- [17] MOLYNEUX, Russell J., Stephen T. LEE, Dale R. GARDNER, Kip E. PANTER a Lynn F. JAMES. Phytochemicals: The good, the bad and the ugly? *Phytochemistry*. 2007, **68**(22-24), 2973-2985. ISSN 00319422.
- [18] MARSCHNER, Horst. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Elsevier, 1995. ISBN 9780124735422.
- [19] BARKER, Allen V a D PILBEAM. *Handbook of plant nutrition*. BocaRaton, FL: CRC/Taylor, c2007. ISBN 978-082-4759-049.
- [20] BRUNNER, Marion, Róbert KATONA, Zsolt STEFÁNKA a Thomas PROHASKA. Determination of the geographical origin of processed spice using multielement and isotopic pattern on the example of Szegedi paprika. *European Food Research and Technology*. 2010, **231**(4), 623-634. ISSN 1438-2377.
- [21] *Authenticity and fraud in the feed and food chain-Concepts, terms, and definitions*. CWA 17369:2019. Brussels, Belgium: CEN, European Committee for Standardization, 2019.
- [22] ROBSON, Kelsey, Moira DEAN, Simon HAUGHEY a Christopher ELLIOTT. A comprehensive review of food fraud terminologies and food fraud mitigation guides. *Food Control*. 2021, **120**. ISSN 09567135.
- [23] HONG, Eunyoung, SangYoo LEE, JaeYun JEONG, Jung Min PARK, ByungHee KIM, Kisung KWON a HyangSook CHUN. Modern analytical methods for the detection of food fraud and adulteration by food category. *Journal of the Science of Food and Agriculture*[online]. 2017, 97(12), 3877-3896. DOI: 10.1002/jsfa.8364. ISSN 00225142.
- [24] ČÍŽKOVÁ, Helena, Rudolf ŠEVČÍK, Aleš RAJCHL, Jan PIVOŇKA a Michal VOLDŘICH. Trendy v autenticitě potravin a v přístupech k detekci falšování. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2012, 106(10), 903-910. ISSN 0009-2770.
- [25] SMĚLÁ, Dana. Sladká, ostrá, vcelku i mletá. *Státní zemědělská a potravinářská inspekce*. Brno: SZPI, 2015
- [26] DI ANIBAL, C. V., M. S. RODRÍGUEZ a L. ALBERTENGO. Synchronous fluorescence and multivariate classification analysis as a screening tool for determining Sudan I dye in culinary spices. *Food Control*. 2015, **56**, 18-23 [cit. 2018-04-29]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.03.010. ISSN 09567135.
- [27] ŠTURSA, Václav, Pavel DIVIŠ a Jaromír POŘÍZKA. Characteristics of Paprika samples of different geographical origin. *Potravinářstvo*. 2018, 12(1), - [cit. 2018-04-27]. DOI: 10.5219/902. ISSN 1337-0960.
- [28] *Nářízení EP a Rady (EU) č. 1151/2012 o režimech jakosti zemědělských produktů a potravin*. In: Štrasburk, 2012, ročník 2012, číslo 1151.

- [29] BRUNNER, Marion, Róbert KATONA, Zsolt STEFÁNKA a Thomas PROHASKA. Determination of the geographical origin of processed spice using multielement and isotopic pattern on the example of Szegedi paprika. *European Food Research and Technology*. 2010, **231**(4), 623-634. DOI: 10.1007/s00217-010-1314-7. ISSN 1438-2377.
- [30] DOYLE, N., D. SWAIN, J. J. ROBERTS a D. COZZOLINO. The Use of Qualitative Analysis in Food Research and Technology: Considerations and Reflections from an Applied Point of View. *Food Analytical Methods*. 2017, **10**(4), 964-969.
- [31] BERRUETA, Luis A., Rosa M. ALONSO-SALCES a Károly HÉBERGER. Supervised pattern recognition in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 2007, **1158**(1-2), 196-214. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.05.024. ISSN 00219673.
- [32] LAVINE, Barry. Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry By Matthias Otto (Freiberg University of Mining and Technology). Wiley-VCH. *Journal of the American Chemical Society*. 2000, **122**(24), 5903-5904.
- [33] ESSLINGER, S., J. RIEDL a C. FAUHL-HASSEK. Potential and limitations of non-targeted fingerprinting for authentication of food in official control. *Food Research International*. 2014, **60**, 189-204. ISSN 09639969.
- [34] NAHEED, Zobia, Zhihui CHENG, Cuinan WU, Yanbin WEN a Haiyan DING. Total polyphenols, total flavonoids, allicin and antioxidant capacities in garlic scape cultivars during controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*. 2017, **131**, 39-45. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2017.05.002. ISSN 09255214.
- [35] ČSN ISO 1871 *Obecné pokyny pro stanovení dusíku metodou podle Kjeldahla*. Druhé vydání. Švýcarsko: ISO copyright office, 2010.
- [36] DIVIŠ, P., M. VESPALCOVÁ, J. POŘÍZKA, A. MATĚJÍČEK a J. KAPLAN. Elemental composition of fruits from different Black elder (*Sambucus nigra* L.) cultivars grown in the Czech Republic. *Journal of Elementology*. 2012, (3/2015). ISSN 16442296.
- [37] ČSN ISO 7541 *Mletá (v prášku) paprika. Stanovení celkového obsahu přírodních barviv*. 1. Praha: Český normalizační institut, 1995.
- [38] ČSN ISO 928 *Koření a kořenící látky – Stanovení celkového popela*. 2. Ženeva, Švýcarsko: ISO copyright office, 1997.
- [39] ČSN ISO 7540 *Mletá paprika (Capsicum annum L.) – Specifikace*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010.
- [40] ČSN ISO 1108 *Koření. Stanovení netěkavého étherového extraktu*. 2. Praha: Český normalizační institut, 2005.
- [41] JAITZ, L., K. SIEGL, R. EDER, G. RAK, L. ABRANKO, G. KOELLENSPERGER a S. HANN. LC–MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage. *Food Chemistry*. 2010, **122**(1), 366-372. ISSN 03088146.
- [42] JENKE, Dennis R. Chromatographic Method Validation: A Review of Current Practices and Procedures. III. Ruggedness, Re-Validation and System Suitability. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2006, **19**(12), 1873-1891. ISSN 1082-6076.
- [43] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 978-80-260-4244-0.
- [44] DETHIER, B., M. LALOUX, E. HANON, K. NOTT, S. HEUSKIN. Analysis of the diastereoisomers of alliin by HPLC. *Talanta*. 2012, **101**, 447-452. ISSN 00399140.

- [45] DIVIŠ, P., Z. JUREČKOVÁ, M. VESPALCOVÁ, J. POŘÍZKA a L. PUNČOCHÁŘOVÁ. Simultaneous determination of sweeteners and preservatives in beverages by HPLC-DAD-ELSD. *Potravinářstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2020, **14**, 881-886. ISSN 1337-0960.
- [46] *Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit*. 2. Washington D.C., USA: United States Environmental Protection Agency, 2016.
- [47] BORLINGHAUS, J., F. ALBRECHT, M. GRUHLKE, I. NWACHUKWU a A. SLUSARENKO. Allicin: Chemistry and Biological Properties. *Molecules*. 2014, **19**(8), 12591-12618. ISSN 1420-3049.
- [48] HONG, G. H., S. K. LEE, & W. MOON. Alliin and fructan contents in garlics, by cultivars and cultivating areas. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*. 1997, **38**(6), 483-488.
- [49] MONTAÑO, Alfredo, Victor Manuel BEATO, Francisco MANSILLA a Francisco ORGAZ. Effect of Genetic Characteristics and Environmental Factors on Organosulfur Compounds in Garlic (*Allium sativum* L.) Grown in Andalusia, Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, **59**(4), 1301-1307. ISSN 0021-8561.
- [50] PUTNIK, P., D. GABRIĆ, S. ROOHINEJAD, F. J. BARBA, D. GRANATO, K. MALLIKARJUNAN, J. M. LORENZO a D. BURSAC KOVAČEVIĆ. An overview of organosulfur compounds from *Allium* spp: From processing and preservation to evaluation of their bioavailability, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. *Food Chemistry*. 2019, **276**, 680-691. ISSN 03088146.
- [51] GRÉGROVÁ, A., H. ČÍŽKOVÁ, I. BULANTOVÁ, A. RAJCHL a M. VOLDŘICH. Characteristics of garlic of the Czech origin. *Czech Journal of Food Sciences*. 2013, **31**(6), 581-588. ISSN 12121800.
- [52] KHAR, Anil, Kaushik BANERJEE, Manjusha R. JADHAV a K.E. LAWANDE. Evaluation of garlic ecotypes for allicin and other allyl thiosulphinates. *Food Chemistry*. 2011, **128**(4), 988-996. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.004. ISSN 03088146.
- [53] LAWSON, Larry a Bronwyn HUGHES. Characterization of the Formation of Allicin and Other Thiosulfinates from Garlic. *Planta Medica*. 1992, **58**(4), 345-350. ISSN 0032-0943
- [54] PRATI, Patricia, Celina Maria HENRIQUE, Aparecida Sônia de SOUZA, Vera Sônia Nunes da SILVA a Maria Teresa Bertoldo PACHECO. Evaluation of allicin stability in processed garlic of different cultivars. *Food Science and Technology (Campinas)*. 2014, **34**(3), 623-628. ISSN 1678-457X.
- [55] HATWAL, P. K., A. KAVITA, M. K. CHOUDHARY a B. SINGH. Effect of vermicompost, sulphur and micronutrients on yield and quality of garlic (*Allium sativum* L.) Var. 'G-282'. *Annals of Biology*. 2015, **31**(1), 85-90.
- [56] BOHAČENKO, I. A J. PINKROVÁ. Stanovení obsahu fruktanů metodou HPLC s refraktometrickou detekcí. *Listy cukrovarnické a řepářské*. 2014, **130**(1), 28-32. ISSN 1805-9708.
- [57] SENDL, A. *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 1 Chemistry, analysis, history, botany. *Phytomedicine*. 1995, **1**(4), 323-339 [cit. 2020-02-17]. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80011-5. ISSN 09447113.
- [58] Centrum pro databázi složení potravin: *Databáze složení potravin ČR, verze 8.20*. Praha: Ústav zemědělské ekonomiky a informací, 2020.

- [59] CHEKKI, R. Z., A. SNOUSSI, I. HAMROUNI a N. BOUZOUITA. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry*. 2014, **3**(4), 947-956. ISSN 20283997.
- [60] SHANG, CAO, XU, GAN, TANG, CORKE, MAVUMENGWANA a LI. Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*. 2019, **8**(7) DOI: 10.3390/foods8070246. ISSN 2304-8158.
- [61] QIU, Zhichang, Zhenjia ZHENG, Bin ZHANG, Dongxiao SUN-WATERHOUSE a Xuguang QIAO. Formation, nutritional value, and enhancement of characteristic components in black garlic: A review for maximizing the goodness to humans. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2020, 19(2), 801-834. DOI: 10.1111/1541-4337.12529. ISSN 1541-4337.
- [62] MARTINS, Natália, Spyridon PETROPOULOS a Isabel C.F.R. FERREIRA. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*g.Allium*) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chemistry*. 2016, **211**, 41-50. ISSN 03088146.
- [63] LENKOVÁ, Marianna, Judita BYSTRICKÁ, Alena VOLLMANNOVÁ, Tomáš TÓTH a Ján KOVAROVIČ. Evaluation and comparison of the content of total polyphenols and antioxidant activity in garlic (*Allium sativum* L.). *Potravinárstvo*. 2017, **11**(1), 65-70 [cit. 2020-11-23]. ISSN 1337-0960.
- [64] KAVALCOVÁ, P., J. BYSTRICKÁ, J. TOMÁŠ, J. KAROVIČOVÁ a V. KUČTOVÁ. Evaluation and comparison of the content of total polyphenols and antioxidant activity in onion, garlic and leek. *Potravinárstvo*. 2014, **8**(1), 272-276. ISSN 1337-0960.
- [65] AL-NAGDY, S. A., M. O. ABDEL-RAHMAN a H. I. HEIBA. Evidence for some prostaglandins in *Allium sativum* extracts. *Phytotherapy Research*. 1988, **2**(4), 196-197. ISSN 0951-418X.
- [66] BONASIA, Anna, Giulia CONVERSA, Corrado LAZZIZERA, Pasqua LOIZZO, Giuseppe GAMBACORTA a Antonio ELIA. Evaluation of Garlic Landraces from Foggia Province (Puglia Region; Italy). *Foods*. 2020, **9**(7). ISSN 2304-8158.
- [67] CHEN, Cun, Jing CAI, Song-qing LIU, et al. Comparative study on the composition of four different varieties of garlic. *PeerJ*. 2019, 7 . ISSN 2167-8359.
- [68] BOSLAND, P. W. a E. J. VOTAVA. *Peppers: vegetable and spice capsicums*. 2nd ed. Cambridge, MA: CABI, 2012. Crop production science in horticulture, [22]. ISBN 978-184-5938-253.
- [69] SANTOS, L. P. D., M. L. P. CUNHA, J. M. CLEMENTE, T. F. OLIVEIRA, P. M. DE AQUINO, N. S. ASSUNÇÃO a L. A. de AQUINO. Recovery efficiencies of nitrogen, phosphorus and potassium of the garlic crop. *Journal of Plant Nutrition*. 2017, **40**(5), 624-631. ISSN 0190-4167.
- [70] DRIVELOS, Spiros A. a Constantinos A. GEORGIU. Multi-element and multi-isotope-ratio analysis to determine the geographical origin of foods in the European Union. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2012, **40**, 38-51. ISSN 01659936.
- [71] GONZÁLVEZ, A., S. ARMENTA, M.L. CERVERA a M. DE LA GUARDIA. Elemental composition of seasoning products. *Talanta*. 2008, **74**(5), 1085-1095. ISSN 00399140.

- [72] KANG, O.. Physicochemical Characteristics of Black Garlic after Different Thermal Processing Steps. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2016, **21**(4), 348-354. ISSN 2287-1098.
- [73] OH, Seo Young a Seok Chan KOH. Growth and Mineral Content of Southern-type Garlic Grown in Volcanic and Non-volcanic Ash Soils on Jeju Island. *Horticultural Science and Technology*. 2020, [19][19](1), 56-65
- [74] MORAIS, H., P. RODRIGUES, C. RAMOS, E. FORGÁCS, T. CSERHÁTI a J. OLIVEIRA. Effect of ascorbic acid on the stability of β -carotene and capsanthin in paprika (*Capsicum annum*) powder. *Nahrung*. 2002, **46**(5), 308–310.
- [75] ZAKI, Naima, Abdelmalek HAKMAOUI, Aaziz OUATMANE a Juan Pablo FERNANDEZ-TRUJILLO. Quality characteristics of Moroccan sweet paprika (*Capsicum annum* L.) at different sampling times. *Food Science and Technology (Campinas)*. 2013, **33**(3), 577-585. ISSN 1678-457x.
- [76] MOLNÁR, Helga, Éva KÓNYA, Zsolt ZALÁN, Ildikó BATA-VIDÁCS, Rita TÖMÖSKÖZI-FARKAS, András SZÉKÁCS a Nóra ADÁNYI. Chemical characteristics of spice paprika of different origins. *Food Control*. 2018, **83**, 54-60. ISSN 09567135.
- [77] LEE, Hyun-Suk, Ju-Yeon HONG, Young-Jun CHOI, Yang Suk LEE, Su-Jeong SEO a Seung-Ryeul SHIN. Characteristics in the components of the paprika by drying methods. *Korean Journal of Food Preservation*. 2017, **24**(4), 497-504. ISSN 1738-7248.
- [78] CHETTI, Mahadev B., G. T. DEEPA, Roshny T. ANTONY, Mahadev C. KHETAGOUDAR, Dodappa S. UPPAR a Channappa M. NAVALGATTI. Influence of vakuun packaging and long term storage on quality of whole chilli (*Capsicum annum* L.). *Journal of Food Science and Technology*. 2014, **51**(10), 2827-2832. ISSN 0022-1155.
- [79] DUMAN, Ahmet Dogan. Storage of red chilipepper under hermetically sealed or vakuun conditions for preservativ of its quality and preventiv of mykotoxin occurrence. *Journal of Stored Products Research*. 2010, **46**(3), 155-160. ISSN 0022474x.
- [80] *USDA National Nutrient Database for Standard Reference*. Beltsville: United States Department of Agriculture, 2018.
- [81] MINGUEZ-MOSQUERA, M. Isabel a Damaso. HORNERO-MENDEZ. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1993, **41**(10), 1616-1620. ISSN 0021-8561.
- [82] GIUFFRIDA, D., P. DUGO, G. TORRE, C. BIGNARDI, A. CAVAZZA, C. CORADINI a G. DUGO. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency. *Food Chemistry*. 2013, **140**(4), 794-802. ISSN 03088146.
- [83] ASNIN, L. a S. W. PARK. Isolation and Analysis of Bioactive Compounds in *Capsicum* Peppers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2014, **55**(2), 254-289.
- [84] SHAKED, R., K. ROSENFELD a E. PRESSMAN. The effect of low night temperatures on carbohydrates metabolism in developing pollen grains of pepper in relation to their number and functioning. *Scientia Horticulturae*. 2004, **102**(1), 29-36. ISSN 03044238.
- [85] DEMIR, I., A. TEKIN, Z. OKMEN, G. OKCU. Seed Quality, and Fatty Acid and Sugar Contents of Pepper Seeds (*Capsicum annum* L.) in Relation to Seed Development and Drying Temperatures. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2008, **32**(6), 529-536. ISSN: 1300-011X

- [86] SPERANZA, Giovanna, Roberto LO SCALZO, Carlo F. MORELLI, Marco RABUFFETTI a Giulia BIANCHI. Influence of drying techniques and growing location on the chemical composition of sweet pepper (*Capsicum annuum* L., var. Senise). *Journal of Food Biochemistry*. 2019, **43**(11) [cit. 2020-11-24]. ISSN 0145-8884.
- [87] MORENO, D. A., G. VÍLLORA, J. M. RUIZ, J. OLIVARES, L. LÓPEZ-LEFEBRE, J. HERNÁNDEZ a L. ROMERO. Applications in sustainable production. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2008, **31**(11-14), 2335-2343. ISSN 0010-3624.
- [88] JOHNSON, J.M. a F.D. CONFORTI. FRUCTOSE. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Elsevier, 2003, 2003, s. 2748-2752. ISBN 9780122270550.
- [89] FLORES, Pilar, Pilar HELLIN a Jose FENOLL. Effect of manure and mineral fertilisation on pepper nutritional quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2009, **89**(9), 1581-1586. ISSN 00225142.
- [90] FLORES, P., P. HELLÍN, A. LACASA, A. LÓPEZ a J. FENOLL. Pepper antioxidant composition as affected by organic, low-input and soilless cultivation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2009, **89**(13), 2267-2274. ISSN 00225142.
- [91] MO, H., K. JANG, J. HWANG, S. JEON a B. KIM. Horticultural and chemical quality characterization of accessions selected from four species of *Capsicum*. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2015, **56**(1), 54-66. ISSN 2211-3452.
- [92] KIM, J., J. AHN, S. LEE, B. MOON, T. HA a S. KIM. Phytochemicals and Antioxidant Activity of Fruits and Leaves of Paprika (*Capsicum Annuum* L., var. Special) Cultivated in Korea. *Journal of Food Science*. 2011, **76**(2), C193-C198. ISSN 00221147.
- [93] PALACIOS-MORILLO, Ana, José Marcos JURADO, Ángela ALCÁZAR a Fernando DE PABLOS. Geographical characterization of Spanish PDO paprika by multivariate analysis of multielemental content. *Talanta*. 2014, **128**, 15-22. ISSN 00399140.
- [94] VEENSTRA, Timothy D. Omics in Systems Biology: Current Progress and Future Outlook. *PROTEOMICS*. 2021, **21**(3-4). ISSN 1615-9853.
- [95] GRANATO, D., P. PUTNIK, D. B. KOVAČEVIĆ, et al. Trends in Chemometrics: Food Authentication, Microbiology, and Effects of Processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2018, **17**(3), 663-677. ISSN 15414337.
- [96] BORRÀS, Eva, Joan FERRÉ, Ricard BOQUÉ, Montserrat MESTRES, Laura ACEÑA a Olga BUSTO. Data fusion methodologies for food and beverage authentication and quality assessment-A review. *Analytica Chimica Acta*. 2015, **891**, 1-14. ISSN 00032670.
- [97] BIANCOLILLO, A., R. BUCCI, A. L. MAGRÌ, A. D. MAGRÌ a F. MARINI. Data-fusion for multiplatform characterization of an italian craft beer aimed at its authentication. *Analytica Chimica Acta*. 2014, **820**, 23-31. ISSN 00032670.

8 PUBLIKACE A VÝSTUPY

Publikace v impaktovaných časopisech

JANDRIĆ Z., TSCHAIKOVSKY A., ZITEK A., CAUSON T., ŠTURSA V., PROHASKA T., HANN S.. Multivariate modelling techniques applied to metabolomic, elemental and isotopic fingerprints for the verification of regional geographical origin of Austrian carrots. *Food Chemistry*, 2020, č. 338, s. 1-10. ISSN: 0308-8146.

Publikace v recenzovaných časopisech

ŠTURSA, V.; DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J. Characteristics of Paprika Samples of Different Geographical origin. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2018, roč. 12, č. 1, s. 254-261. ISSN: 1337-0960.

PUNČOCHÁŘOVÁ, L.; POŘÍZKA, J.; DIVIŠ, P.; ŠTURSA, V. Study of the influence of brewing water on selected analytes in beer. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2019, roč. 13, č. 1, s. 507-514. ISSN: 1337-0960.

DIVIŠ, P.; SMILEK, J.; POŘÍZKA, J.; ŠTURSA, V. The Quality of Ketchups from the Czech Republic's Market in Terms of Their Physico-Chemical Properties. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2018, roč. 12, č. 1, s. 233-240. ISSN: 1337-0960.

Publikace a abstrakty ve sborníku

VESPALCOVÁ, M.; LOŠKOVÁ, T.; JUREČKOVÁ, Z.; ŠTURSA, V.; POŘÍZKA, J.; DIVIŠ, P. *Processing of pomace from chokeberry and elderberry*. 7th Meeting on Chemistry and Life 2018. Book of abstracts. 2018. s. 71-71.

POŘÍZKA, J.; VOPELKOVÁ, D.; DIVIŠ, P.; ŠTURSA, V. Posouzení vlivu pasterizace a filtrace na obsah vybraných chemických složek piva. In *BEZPEČNOSTĚ A KONTROLA POTRAVIN*. 2018. s. 204-211. ISBN: 978-80-552-1813-7.

ŠTÁVOVÁ, E.; POŘÍZKA, J.; ŠTURSA, V.; ENEV, V.; DIVIŠ, P. Extraction of ferulic acid from wheat bran by alkaline hydrolysis. In *Proceedings of 24th International PhD Students Conference (Mendelnet 2017)*. 2017. s. 574-579. ISBN: 978-80-7509-529-9.

VOPELKOVÁ, D.; POŘÍZKA, J.; ŠTURSA, V.; DIVIŠ, P. *Influence of the pasteurization and filtration on selected chemical components of beer*. 10th International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications. 2017.

ŠTURSA, V.; DIVIŠ, P.; JUREČKOVÁ, Z.; MATĚJČEK, A. Analysis of Red Currant (*Ribes Rubrum*) and Red Gooseberry (*Ribes Uva-Crispa*) Varieties by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy. In *Proceedings of International PhD Students Conference (Mendelnet 2016)*. 2016. s. 669-674. ISBN: 978-80-7509-443-8.