



Diagnostické metody v analýze potravin



Matej Pospiech, FVHE Brno





Důvody diagnostiky potravin

- Dodržování legislativních požadavků
 - Vlastní kontrola v provozu
 - Národní legislativa
 - Evropská a mezinárodní legislativa
- Detekce rizikových látek
- Posouzení kvality potravin



Přehled nejběžnějších diagnostických metod

- Senzorické metody
- Chemické
- Fyzikální
- Fyzikálně – chemické
- Imunologické
- Molekulárně biologické metody
- Mikroskopické metody



Senzorické metody

- Využívají lidské smysly
- Pro potraviny vhodné - vyhodnocují se pocity konzumentů
- Méně přesné – závislé na subjektivním hodnocení hodnotitele
- Časově náročné
- Textura, barva – lze využít také přístroje



Senzorické metody

- Uplatnění u všech potravin
- Stanovení kvality
 - čaje
 - kávy
 - alkoholických nápojů
 - tabákových výrobků



Chemické metody

- zjištění chemického složení potravin
- běžně používané
- přesné
- uplatnění u všech potravin



Chemické metody

- Potraviny živočišného původu
 - Stanovení dusíkatých látek – KJELDAHL
 - šunky

- Stanovení tuků – extrakce

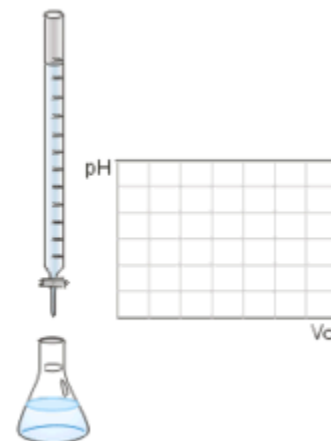
- trvanlivé masné výrobky

- Stanovení solí – titračně



Chemické metody

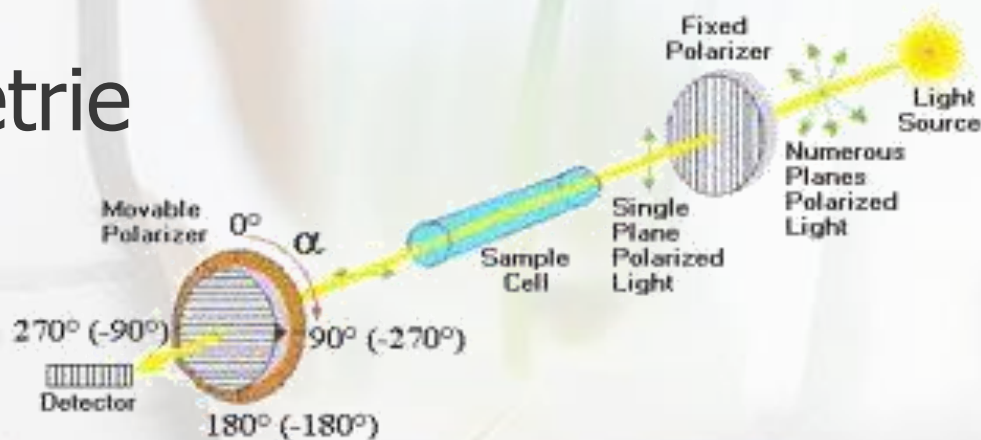
- Potraviny rostlinného původu
 - Stanovení tuků – extrakce
 - brambůrky, sušenky
 - Stanovení čísla kyselosti – titračně
 - mouky, rostlinné tuky
 - Stanovení oxidu siřičitého
 - víno, hrozinky



Fyzikální metody

■ Optické - Polarimetrie

- škroby
- vitamíny
- alkaloidy



■ Hmotnostní spektroskopie

- stanovení prvků
- detekce falšování lihovin
vína, ovocných džusů a
olivového oleje





Fyzikální metody

- Spektroskopie

- AAS - atomová absorpční spektroskopie
- UV/VIS – ultrafialově viditelná spektroskopie
 - barviva, antioxidanty
- IČ – spektrometrie
 - near – infrared (NIR) 12500 až 4000 cm^{-1}
 - middle – infrared (MIR) 4000 až 200 cm^{-1}
 - far – infrared (FIR) 200 až 10 cm^{-1}



Fyzikální metody

- Near – InfraRed (NIR)
 - falšování ovocných výrobků, medu
 - falšování rybí moučky masokostní moučkou
 - falšování hovězích hamburgerů (průkaz skopového a vepřového masa, sušeného mléka, pšeničné mouky)
 - stanovení mlýnských výrobků



Fyzikálně-chemické metody

- využití u všech potravin
- stanovení organických směsí nebo jednotlivých komponent potravin
- Chromatografické metody
- Elektroforetické metody

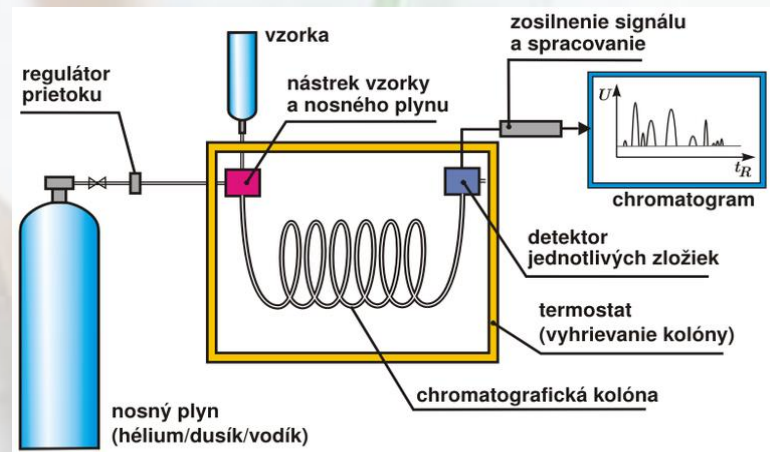


Fyzikálně-chemické metody

- Chromatografické metody
 - Princip – dělení látek ze směsi v dvoufázovém dělicím systému na základě různé afinity k těmto fázím. Fáze se od sebe odlišují některou fyzikálně chemickou vlastností.
- Stacionární fáze
 - sloupcová, papírová, chromatografie na tenké vrstvě
- Mobilní fáze
 - plynová, fluidní, plazmová, kapalinová chromatografie

Fyzikálně-chemické metody

- Plynová chromatografie



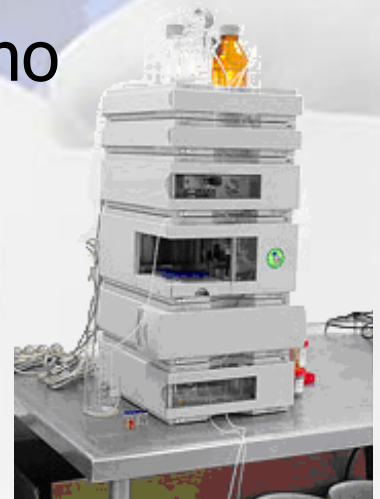
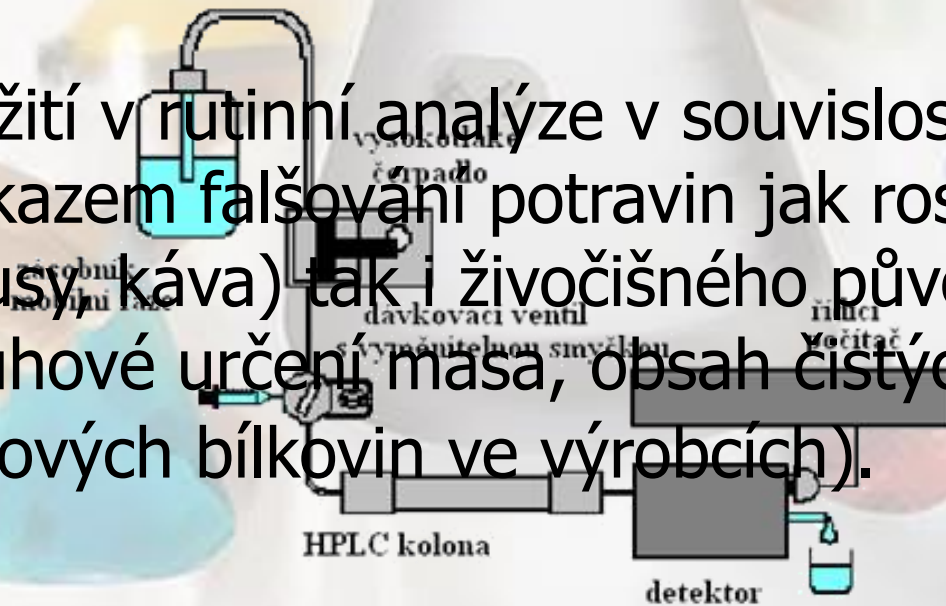
- je vhodná pro analýzu lipidů
rezidují pesticidů

- plynová chromatografie s MS detektorem
byla použita pro identifikaci ilegálně
přidávaného diethylenglykolu do vína



Fyzikálně-chemické metody

- Kapalinová chromatografie
- LC, **HPLC**, NPLC, RPLC
- Použití v rutinní analýze v souvislosti s průkazem falšování potravin jak rostlinného (džusy, káva) tak i živočišného původu (druhé určení masa, obsah čistých svalových bílkovin ve výrobcích).



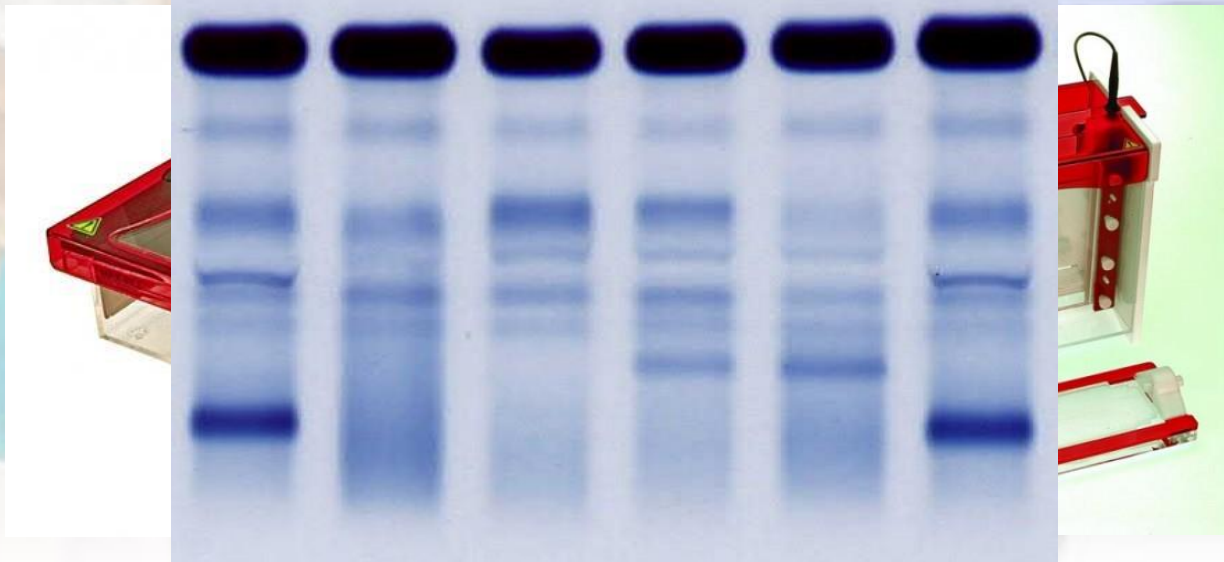


Fyzikálně-chemické metody

- Elektroforetické metody
 - Princip : pohyb elektricky nabitých iontů, molekul a koloidních částic v prostředí stejnosměrného elektrického pole. Pohyblivost těchto částic v elektrickém poli je rozdílná a závisí na velikosti náboje, velikosti a tvaru molekuly, na velikosti elektrického pole.
- Podle prostředí separace
 - CZE, **CGE**, IMS, CITP, CIEF, MEKC, CEC

Fyzikálně-chemické metody

- Elektroforéza v polyakrylamidovém gelu (PAGE,)
 - používány pro detekci proteinů, alergenů
 - odlišení různých druhů mlék





Fyzikálně-chemické metody

- Elektroforéza v polyakrylamidovém gelu s dodecylsulfátem sodným (SDS - PAGE)
 - SDS - aniontaktivní detergent ve vazbě na bílkovinu vyrovnává nábojové rozdíly bílkovin a ty se pohybují v gelu jen podle velikosti
 - používán jenom pro detekci proteinů
 - kvalitativně nebo kvantitativně

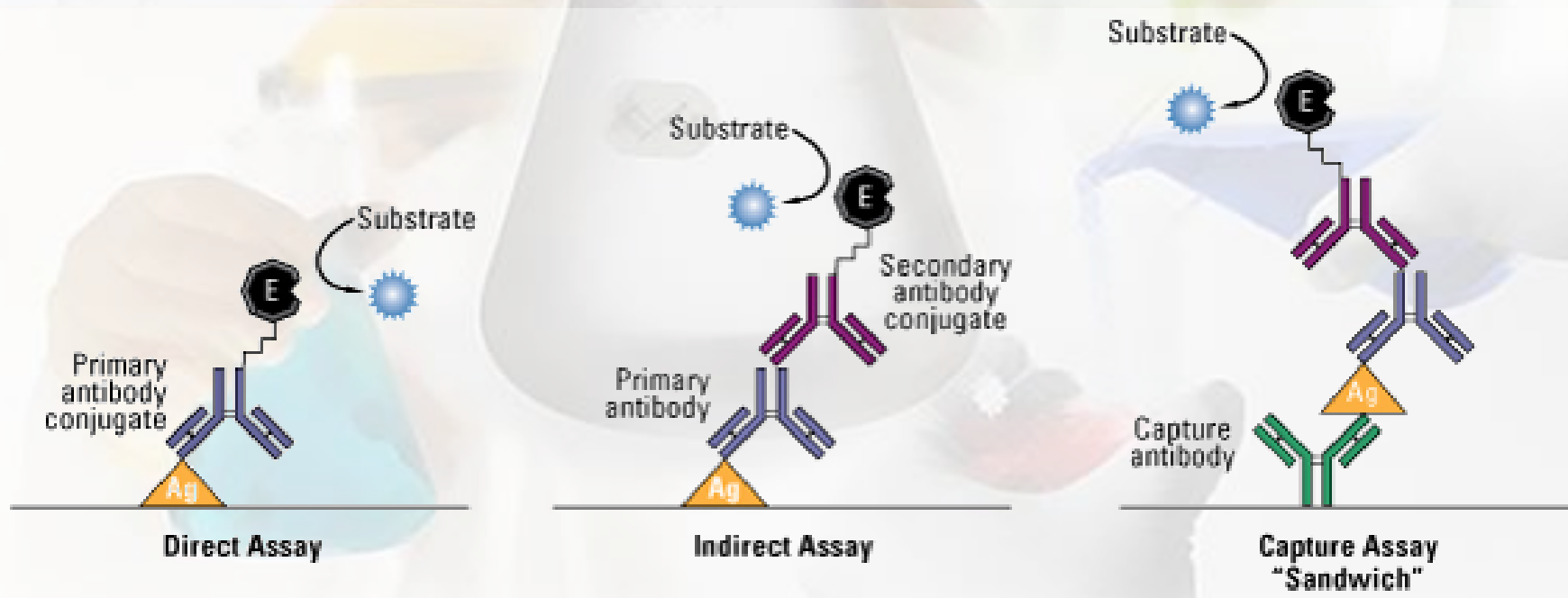


Fyzikálně-chemické metody

- Kapilární izoatachoforéza (CITP)
 - separace organických kyselin a bází
 - rezidua pesticidů, toxiny
 - vysoká rozlišovací schopnost
 - rychlost

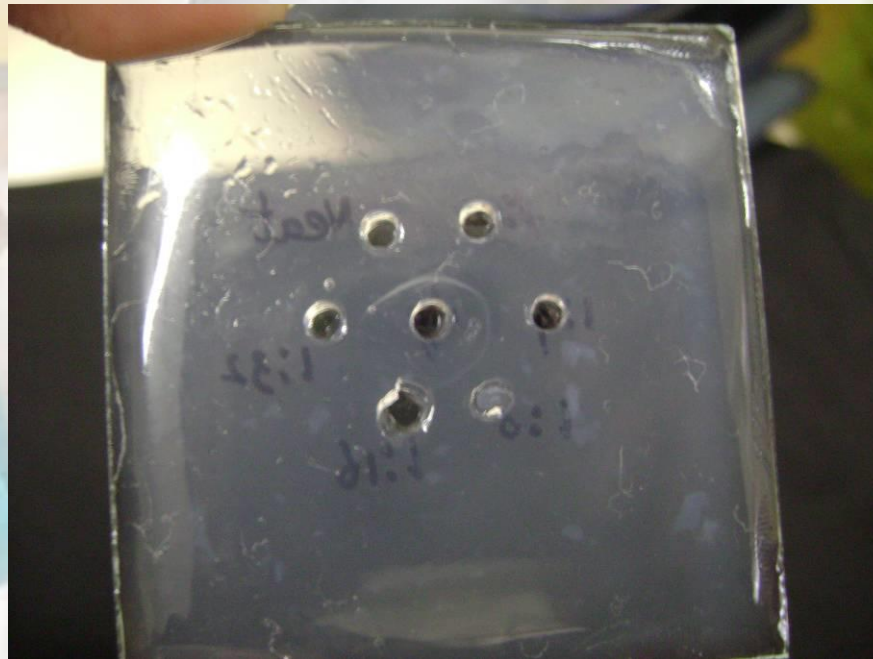
Imunologické metody

- Princip: využívá specifické vazby antigen – protilátka



Imunologické metody

- Imunodifuze
 - kvalitativní a kvantitativní detekce antigenů a protilátek



Imunologické metody

- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

- běžně používána
- kvalitativní nebo kvantitativní
- vysoce přesná



- existence kitů – user friendly



Imunologické metody

- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
 - Detekce:
 - proteinů – alergenů, vaziv
 - toxinů
 - antibiotik
 - enzymů
 - hormonů



Imunologické metody

- RIE (Radioimmunoassay)
 - detekce radionukleotidů
- Western Blot, imunoblot (Enzyme-linked Immunoelctrotransfer Blot Technique)
 - přesnější než ELISA
 - vyžaduje separaci sledované látky v gelu

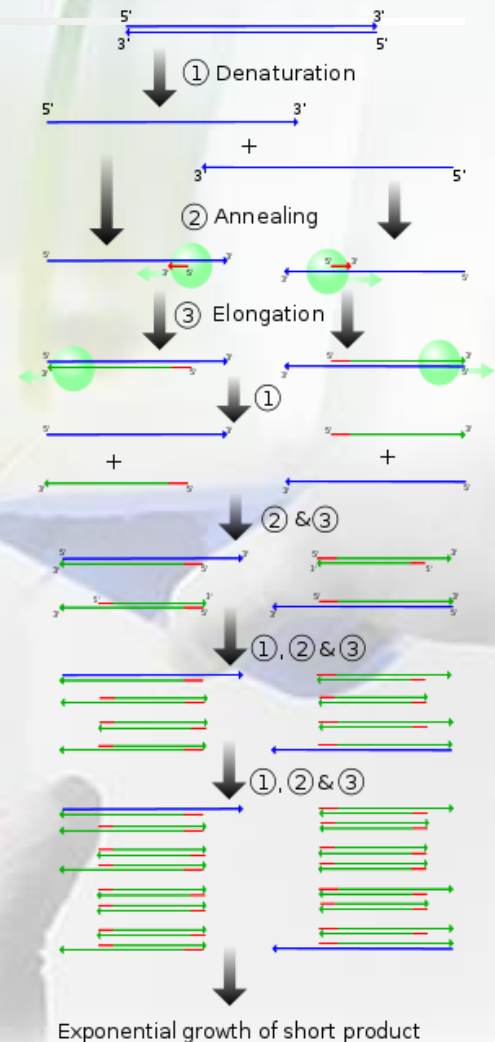


Molekulárne biologické metódy

- Metódy založené na amplifikácii špecifického fragmentu deoxyribonukleovej kyseliny (DNA) pomocou sady krátkych úsekov nukleotidov (tzv. primerov), ktorých poradie zodpovedá koncům vybraného amplifikovaného úseku DNA.
- Vizualizácia výsledných PCR amplikonov prebieha pomocou elektroforézy v agarózovom alebo polyakrylamidovom gely.

Molekulárne biologické metódy

- asymetrická PCR
- multiplex PCR
- in situ PCR
- real time PCR





Molekulárne biologické metody

- Detekce
 - GMO
 - druhové rozlišení masa
 - proteinů
 - kulturních mikroorganismů, kontaminujících mikroorganismů
- Nevýhody
 - citlivost na kontaminace
 - nespecifická amplifikace
 - detekce genu ne jeho produktu

Mikroskopické metody

- Princip: Identifikace jednotlivých součástí je založena na znalosti stavby a struktury rostlinných a živočišných tkání.
- V úvahu je třeba brát změny po technologickém zpracování.





Mikroskopické metody

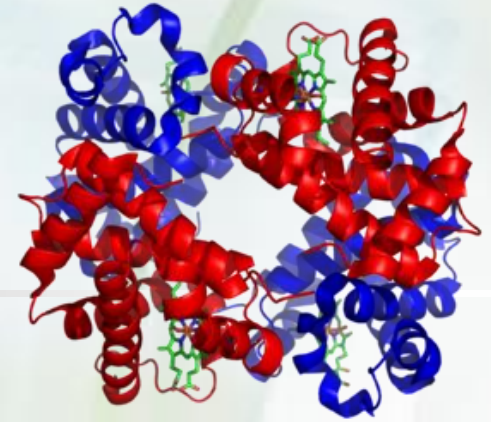
- Světelná mikroskopie
 - přehledné barvicí metody
 - cílené barvicí metody
 - nebarvené – fázový kontrast, polarizace
- Fluorescenční mikroskopie
- Elektronová mikroskopie SEM, TEM
- Imunohistochemické metody



Mikroskopické metody

- Detekce
 - čistoty koření, bylin
 - určení druhů mouk
 - určení druhů medu
- Popis uspořádání potravinových komponent

Nové metody



■ Proteomika

- hodnocení kvality a autenticity potravin
- identifikace druhů mléka, masa
- náročné na separaci a přístrojové vybavení

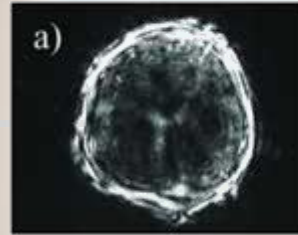


Nové metody

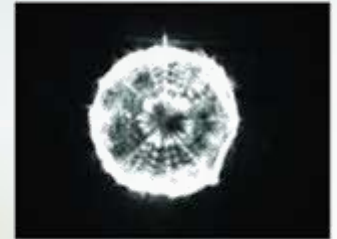
■ Biosenzory

- převádí určitý fyzikální nebo chemický signál na jiný signál, lépe měřitelný, jehož rozpoznávací část tvoří biologický materiál
- neposkytuje přesné informace
- rychle a levné varovné signály
- detekce bakterií

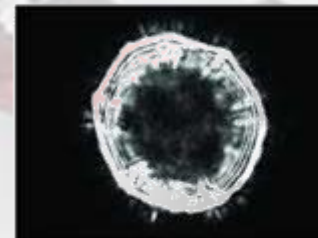
a) *E. coli* K12



b) *E. coli* O157:H7 G5295



c) *E. coli* O157:H7 K6



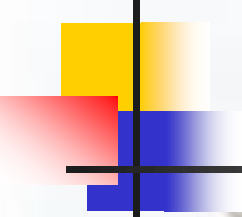

d) *E. coli* O157:H7 01



Nové metody

- Biosenzory – aplikace v potravinářství
 - Nápoje
 - Detekce glukósy, fruktósy
 - Detekce alkoholu, glycerolu
 - Detekce kyselin (mléčná, jablečná)





Děkuji za pozornost

mpospiech@vfu.cz