

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta
Katedra chemie a didaktiky chemie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Proteinové složení špaget aneb jsou ve špagetách vejce?

Protein composition of pasta or are eggs in spaghetti?

Josefina Báčová

Vedoucí práce: doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Studijní program: Specializace v pedagogice

Studijní obor: B BI-CH

Praha 2019

Odevzdáním této bakalářské práce na téma „Proteinové složení špaget aneb jsou ve špagetách vejce?“ potvrzuji, že jsem ji vypracovala pod vedením vedoucí práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále potvrzuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze 12. 7. 2019

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. Mgr. Ing. Štěpánce Kučkové, Ph.D., za nekonečnou trpělivost, cenné rady, odborné konzultace a dlouhodobou podporu v průběhu psaní této práce. Dále bych ráda poděkovala svým přátelům a spolužákům za dlouhodobou psychickou podporu, kterou jsem opravdu potřebovala.

Abstrakt

V této bakalářské práci jsem se věnovala ověřování složení špaget metodou LC-ESI-Q-TOF (Liquid Chromatography – Electrospray Ionisation – Quadrupole – Time of Flight). Tato metoda je v biochemických i potravinářských oborech často používaná ke studiu proteinového složení komplexních vzorků.

Pro tuto práci bylo vybráno 12 typů běžně dostupných špaget, které byly naváženy, nadrceny a následně štěpeny enzymem trypsinem na peptidy. Jako referenční vzorky byly použity dva druhy bezvaječných špaget, dále bylo vybráno pět druhů špaget, u kterých výrobce uvedl, že mohou obsahovat stopové množství vajec a dále bylo analyzováno pět druhů vaječných špaget, u kterých výrobci uvedli, že obsahují minimálně dvě procenta vajec. Výsledné tabulky byly zpracovány a vyhodnoceny proti databázím proteinů z organismů pšenice (*Triticum aestivum*/*Triticum durum*) a kura domácího (*Gallus gallus*). Podle očekávání byly ve vzorcích bezvaječných těstovin nalezeny proteiny pouze pšeničného původu. Ani u vzorků špaget s možností obsahu stopového množství vajec nebyly vaječné proteiny detekovány. Ve vzorcích vaječných špaget byly sice identifikovány proteiny pocházející z kura domácího, ovšem prokazatelně vaječné proteiny byly nalezeny pouze u jediného vzorku. I přes prokázání vaječných proteinů pouze v jediném vzorku, považuji využití této metody k danému účelu za úspěšné.

Klíčová slova

Těstoviny, vejce, proteiny, enzymové štěpení, hmotnostní spektrometrie

Abstract

This thesis is focused on detection of egg proteins in spaghetti. For this purpose a mass spectrometry, namely LC-ESI-QTOF (Liquid Chromatography – Electrospray Ionisation – Quadrupole – Time of Flight) was applied. This method is commonly used for identification of proteins in biochemistry and food industry.

Twelve types of spaghetti were chosen for this study – two eggless types of pasta, five types of spaghetti which allegedly can compound traces of eggs and five types of pasta with content of eggs. Results were processed and compared with international databases of proteins from wheat (*Triticum*) and chicken (*Gallus gallus*). How it was expected, only wheat proteins were found in eggless samples. In samples of spaghetti with possible traces of eggs any of egg proteins were not detected. In samples of pasta with egg content proteins originated from chicken were found. Despite of unambiguous identification of egg proteins in only one sample I consider using this method as successful.

Keywords

Pasta, eggs, proteins, enzyme digestion, mass spectrometry

Obsah

Teoretická část.....	9
1.1 Těstoviny a jejich historie.....	9
1.2 Suroviny.....	10
1.2.1 Pšenice.....	10
1.2.2 Mouka.....	14
1.2.3 Voda	15
1.2.4 Vejce.....	16
1.2.5 Další přísady.....	28
1.3 Výroba	29
1.3.1 Historie	29
1.3.2 Výroba dnes.....	29
1.4 Metody použité k analýze vaječných proteinů	31
1.4.1 Spektrometrické metody	31
1.4.2 Metody používané v potravinářství ke kontrole kvality.....	31
1.4.3 Kjeldahlova metoda.....	31
1.4.4 Měření obsahu cholesterolu pomocí plynové chromatografie	32
1.4.5 Metody používané k proteinovým rozborům	32
1.5 Hmotnostní spektrometrie	33
1.5.1 Metoda LC-ESI-Q-TOF	33
1.5.2 Kapalinová chromatografie	33
1.5.3 Elektrosprejová ionizace	34
1.5.4 Kvadrupól.....	34
1.5.5 Analyzátor doby letu	34
2 Experimentální část.....	35
2.1 Použité chemikálie.....	35
2.2 Použité roztoky	35
2.3 Použité přístroje a pomůcky	35
2.4 Vzorky	35
2.4.1 Příprava vzorků	36
3 Výsledky a diskuze	38
3.1 Očekávané a nalezené proteiny a jejich rozdělení.....	38
3.1.1 Vaječné proteiny	38
3.1.2 Pšeničné proteiny	39
3.2 Výsledky analýzy jednotlivých vzorků	43

3.2.1	Rosické těstoviny	43
3.2.2	Riscossa spaghetti	45
3.2.3	Panzani 3 minutové	46
3.2.4	Panzani 8 minutové	47
3.2.5	Panzani 11 minutové	48
3.2.6	Albert špagety	49
3.2.7	Špagety (vzorek bez uvedené značky)	50
3.2.8	Premium špagety	51
3.2.9	TESCO Špagety čtyř vaječné	52
3.2.10	Špagety vaječné Česká chuť	53
3.2.11	TESCO Tagliatelle vaječné těstoviny nesusšené	54
3.2.12	Vaječné Zátkovy Těstoviny Špagety	55
3.3	Shrnutí výsledků	58
4	Závěr	60
5	Citovaná literatura	62
6	Seznam použitých zkratk	67

Úvod

Těstoviny jsou celosvětově rozšířenou a oblíbenou univerzální potravinou. Italská kuchyně, která je na těstovinách a špagetách založena, je stále oblíbenější díky jednoduchosti přípravy pokrmů a jejich variability. Dalším faktorem je i cena špaget, která se pohybuje v řádech desítek korun za půlkilové balení. Ačkoliv je původní italský recept založen pouze na mouce z tvrdé pšenice (*Triticum durum*) zvané semolina, ve střední Evropě je běžné, že se do receptury přidávají vejce. Je to odpověď výrobců na poptávku zákazníků po domácích produktech a přidaná vejce vytváří iluzi, že se jedná o nešizený a kvalitní produkt.

K proteinovým rozborům se nejčastěji používá metoda hmotnostní spektrometrie, protože se jedná o rychlou metodu, která dokáže odhalit všechny komponenty vzorku najednou. U těstovin a špaget se většinou ověřuje pouze uvedené množství a nikoliv původ obsažených proteinů. Množství vajec se určuje z obsahu cholesterolu ve vzorku. Tento postup je běžně užívaný v potravinářství.

U klasických sušených špaget se množství vajec pohybuje mezi 1–2 %, což může být rozhodující u schopnosti metody identifikovat přítomné proteiny. U čerstvých těstovin je uváděné množství větší (18 %), proto bychom zde mohli očekávat snadnější identifikaci a rozpoznání vaječných proteinů. Ve většině případů se používá pasterovaný žloutek, což by mohlo usnadnit identifikaci jednotlivých proteinů, protože hlavní bílkovinná zásoba vejce je uložena v bílku.

V této práci se zabývám původem všech proteinů obsažených v těstovinách a na základě toho posuzuji, zda výrobci při výrobě opravdu používají takové suroviny, které deklarují na obalech svých výrobků.

Teoretická část

1.1 Těstoviny a jejich historie

Při zkoumání proteinového složení těstovin je pro nás důležité vědět, jakým způsobem se vyrábí. Během některých technologických procesů může docházet ke změnám ve struktuře přítomných proteinů, které mohou ovlivnit výsledky analýzy, nebo mohou napovědět, proč jsme došli k určitým výsledkům.

Pro těstoviny se dnes už i u nás používá označení *pasta* – tedy italský překlad slova těstoviny. Původ má toto slovo v řeckém *παστά* (*pasta*) ‘ječmenná kaše’. Anglický název respektuje původní italské označení ‘*pasta*’ a poprvé se s ním setkáváme v roce 1874. Historici popisují několik lexikálních mezníků v historii těstovin. Jako příklad uvádím ‘*itrium*’ – druh vařeného těsta, které bylo běžné v Palestině od 3. do 5. století. Podobné je i arabské ‘*itriyya*’ nalezené ve slovníku z 9. století – tedy pokrm z těsta uváleného do provázkovitých tvarů, které se před vařením suší. (Serventi & Sabban, 2002)

Už v textech Quinta Horacia Flacca z 1. století našeho letopočtu se můžeme dočíst o pokrmu ‘*lagana*’ (jednotné číslo *laganum*), který sestával z tenkých tepelně upravených plátů těsta, a který byl denní obživou. (Serventi & Sabban, 2002) Ve 2. století našeho letopočtu můžeme recept na tento pokrm najít ve spisech Athénaiose z Naucratis: pláty těsta z pšeničné mouky, šťáva z drceného salátu, ochucené kořením a osmažené v oleji. (Serventi & Sabban, 2002) Na začátku 5. století se objevuje první kuchařka – Apicius. Jedná se o zkompileování různých zdrojů – velmi pravděpodobně helénistických. Původ názvu knihy není zcela jasný, ale pravděpodobně vychází ze jména významného gurmána. V úvahu přichází Marcus Gavius Apicius, který ovšem cognomen Apicius získal podle gurmána Apicia, který žil v 90. letech před naším letopočtem. Kniha je rozdělena do deseti kapitol podle surovin. A právě v kapitolách o ‘sekaném mase’ nebo o rybách můžeme najít, že toto maso bylo ‘obkládáno těstovinami *lagana*’. Nicméně příprava těchto plátů stále neodpovídá moderním těstovinám. Společný mají jen tvar a pravděpodobně základní složení – tedy mouka a voda. První zmínka o těstovinách tak, jak je známe dnes, se objevuje v Itálii na přelomu 13. a 14. století. (Serventi & Sabban, 2002)

Ve světě je velmi rozšířena legenda, že těstoviny přivezl do Evropy Marco Polo ze svých cest po Číně. Jak je ovšem uvedeno výše, zmínky o těstovinách se na území Evropy objevují

mnohem dříve, než se Marco Polo na cestu vůbec vydal (1271–1292). I z jeho textů (Milion) je zřejmé, že rýžové pláty cestovatele zaujaly především proto, že mu to připomnělo něco, co již znal z Evropy. Co se ovšem nedá popřít je, že po vydání svých cestovatelských dobrodružství konzumace těstovin vzrostla, protože se čtenáři chtěli konzumací těstovin, které do té doby spíše luxusní potravinou – kvůli obtížnému a zdlouhavému zpracování tvrdé pšenice – přiblížit exotickým sousedům. (Panzani - příběh těstovin, 2019) Další způsob zanesení těstovin do Evropy popisuje ve své knize kritik a spisovatel Jeffrey Steingarten. Ten zastává názor, že těstoviny přinesli do Evropy, konkrétně na Sicilský emirát (965–1072), Arabové. (Steingarten, 1998) Ve 14. a 15. století se konzumace těstovin rozšířila díky jejich snadnému uskladnění v usušené formě. To dovolilo především mořeplavcům vozit zásoby jídla na cestách při objevování světa. Zhruba o jedno století později již byly těstoviny známy prakticky po celé zeměkouli. (Serventi & Sabban, 2002)

1.2 Suroviny

1.2.1 Pšenice

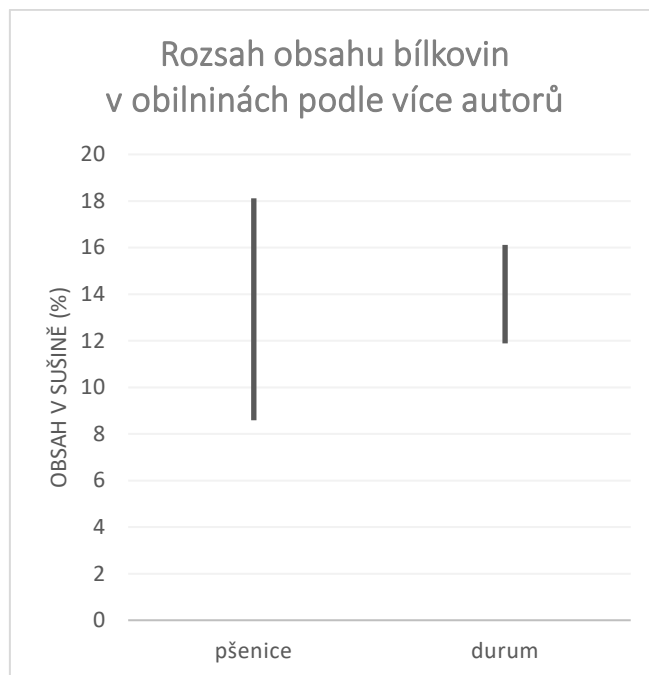
V České republice je pšenice dominantní obilovinou přibližně od druhé světové války a od 70. let je ČR v její produkci plně soběstačná. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Zrno

Pro potravinářské účely je nejdůležitější částí rostliny zrno, konkrétně endosperm. Endosperm je vnitřní živné pletivo, které obklopuje embryo a zásobuje ho živinami. Většinou sacharidy, méně už oleji a proteiny. U pšenice tvoří endosperm přibližně 85 % hmotnosti zrna, z čehož připadá 7–15 % na bílkoviny – procentuální zastoupení bílkovin se liší u vnitřního a vnějšího endospermu. Pojmeme vnější endosperm označujeme aleuronovou vrstvou, která je mezi endospermem a obalovými vrstvami a má vysoký podíl bílkovin – až 30 %. Tyto bílkoviny nejsou ovšem ve srovnatelné kvalitě jako bílkoviny vlastního endospermu. Vymíláním aleuronové vrstvy tedy můžeme získat mouku s vyšším obsahem minerálů i bílkovin, ale kvalita získané mouky se tím nijak zásadně nezvýší. Další částí zrna je klíček. Ten je vždy před mletím odstraňován, protože svou snadnou oxidací a náchylností na enzymové změny negativně ovlivňuje chuť, vůni a vzhled výsledných produktů. Klíček je možné v potravinářství dále využít pouze v případě, že jsou jeho enzymy včas inhibovány, aby nestihlo dojít k vnitřním změnám. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Obilné bílkoviny

Jelikož cílem této práce je určování proteinů ve výsledných produktech, i u pšenice nás zajímá především obsah a složení bílkovin. Průměrný obsah bílkovin je téměř nemožné plošně stanovit, protože tato hodnota se velmi odvíjí od klimatického prostředí, ve kterém rostlina roste, od způsobu hospodářství, od množství a případně druhu hnojení, od složení půdy v místě pěstování apod. Příhoda, Skřivan a Hrušková (2003) vytvořili jednoduché znázornění rozsahu procentuálního obsahu bílkovin, které uvádějí někteří autoři (Graf 1: Rozsah obsahu bílkovin uváděný různými autory).Graf 1: Rozsah obsahu bílkovin uváděný různými autory



Graf 1: Rozsah obsahu bílkovin uváděný různými autory (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Je zřejmé, že největší rozptyl nacházíme u pšenice. To není nic překvapivého, když uvážíme, že pšenice je nejdominantnější obilninou na světě. Co je zajímavé, je znatelně menší rozsah u tvrdé pšenice. Je to způsobeno tím, že *Triticum durum* je náročnější na podmínky při pěstování a její rozšíření je podstatně menší než u *Triticum aestivum*, tudíž i podmínky při jejím pěstování budou podobnější.

Obilné bílkoviny lze rozlišit do několika kategorií podle funkce¹:

- Metabolicky aktivní – tedy bílkoviny, které jsou součástí cytoplasmy a účastní se metabolických procesů, např.: enzymy, membránové složky (receptory), ribozomové bílkoviny apod.

¹ Seznam nalezených obilných proteinů a jejich funkce jsou dále uvedeny v kapitole 3.1.

- Zásobní – které se dále dají rozdělit podle velikosti molekul

Dalším faktorem, podle kterého můžeme bílkoviny dělit, je jejich rozpustnost v různých rozpouštědlech.

1. Albuminy – rozpustné ve vodě
2. Globuliny – rozpustné v roztocích solí
3. Prolaminy – rozpustné v 70% roztoku etanolu
4. Gluteliny – rozpustné jen částečně a to ve zředěných kyselinách nebo zásadách

Toto dělení je založeno pouze na fyzikálních vlastnostech jednotlivých molekul. Vzhledem ke složitosti bílkovinných makročásteček nelze proteiny jednoduše kategorizovat. (Osborne, 1907)

Pšenice se od ostatních obilovin liší množstvím vysokomolekulárních bílkovin, kterých má znatelně nejvíce a zároveň i strukturou jednotlivých bílkovin. Na rozdíl od pšeničných, chybí bílkovinám ostatních proteinů schopnost tvořit samostatné trojrozměrné struktury. I to může být příčinou rozdílu v počtu prostorově velkých molekul. Co se aminokyselin týče, bývá složení u všech obilovin velmi podobné. Hlavním společným znakem je například malý obsah lysinu. Největší zastoupení mají glutamin a kyselina glutamová, nicméně i zde pšenice vystupuje z řady – obsahuje jich zhruba 1,5 násobě více než ostatní. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Obilné sacharidy

Stejně jako u bílkovin je i obsah sacharidů složité přesně určit kvůli podmínkám, ve kterých je rostlina pěstována. Tabulka 1: Rozsah obsahů některých skupin sacharidů v pšenici podle různých autorů (převzato Příhoda, Skřivan a Hrušková, 2003) ukazuje rozptyl hodnot, které uvádějí různí autoři u pšeničného zrna a u mouky.

Tabulka 1: Rozsah obsahů některých skupin sacharidů v pšenici podle různých autorů (převzato Příhoda, Skřivan a Hrušková, 2003)

Typ sacharidů	Zrno	Mouka
Volné cukry (%)	2,1–2,6	1,2–2,1
Škrob (%)	53	65–74
% amylosy ze škrobu	17–27	–
Celulosa (%)	–	0,3
Hemicelulosity (%)	–	2,4
Pentosany (%)	1,4–2,0; 2,3–2,4; 6,0; 6,7	1,1– 1,6; 1,6–2,1
β-glukany (%)	0,34–1,4; 0,54; 1,4	–
Rozpustná vláknina (%)	2,1	1,7

Po technologické stránce jsou ze všech sacharidů nejvýznamnější polysacharidy, tedy řetězce opakujících se monosacharidů. Tyto sacharidy mají podobně jako bílkoviny převážně dvě funkce – zásobní a stavební. Mezi zásobní polysacharidy řadíme škrob, jehož veškeré množství v zrně je kumulováno v endospermu, kde spolu se zásobními bílkovinami tvoří zásobu živin pro nově vznikající rostlinu. Škrob je řetězec tvořený molekulami glukózy, který může tvořit větvené řetězce amylopektinu nebo nevětvené makromolekuly amylosy. Poměr těchto dvou typů řetězců je přibližně 4:1. V rostlinách se škrob vyskytuje ve formě škrobových zrn, která mohou být u různých rostlin různě velká a vzhledem k tomu, že po mletí tvoří mouku z 80 % škrob, odvíjí se většina technologických postupů při zpracování mouky právě od vlastností škrobových zrn. Strukturální sacharidy jsou převážně součástí buněčných stěn rostlin, kde jsou zodpovědné za tvar jednotlivých buněk a tím i pevnost celých rostlinných pletiv. Nejvýznamnějšími stavebními sacharidy jsou například celulosa nebo lignin. Jsou to látky z většiny nerozpustné ve vodě a jako součásti obalů zrna jsou zodpovědné za mechanickou ochranu a zároveň regulaci průniku vody do vnitřního prostoru zrna. Tak jako škrob i celulóza je tvořena řetězcem glukosových jednotek. Rozdílnost v rozpustnosti ve vodě má na svědomí vazba β -1,4. Ve škrobu je jedná o vazby α -1,4 (gykosidická u amylosy) a α -1,6 (u amylopektinu).

Další zmíněnou skupinou sacharidů jsou β -glukany. Jedná se o ve vodě rozpustné polysacharidy, které bobtnají a vytvářejí koloidní systémy důležité pro svou viskozitu a vysokou vaznost. V rostlině se tyto vlastnosti využívají k navázání a udržení vody a obecně k hospodaření s vlhkostí. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Obilné lipidy

Lipidy tvoří oproti proteinům a sacharidům znatelně menší část obilných složek – 2,5 %. Výjimku tvoří oves, který v zrnech obsahuje až 6 % lipidů. Nejvíce tuků můžeme nalézt v klíčcích. Ty jsou ovšem při zpracování zrn do mouky odstraňovány (viz kapitola 1.3.1. Zrno), takže do výsledných produktů již tyto tuky nepřechází v původním množství. Lisováním klíčků se ovšem získává jedna ze základních surovin v potravinářství, a to olej. Některé oleje z obilovin patří k velmi ceněným potravinám – například kukuřičný olej.

Co se složení lipidů týká, nejvýznamnější složkou je kyselina linolová, jejíž snadná oxidovatelnost způsobuje žluknutí mouky. Dalšími mastnými kyselinami, které v pšenici nacházíme, jsou sestupně podle množství kyseliny palmitová, olejová, linolenová a stearová. Mezi lipidy řadíme i pigmenty, konkrétně se jedná o karotenoidy a žlutá/oranžová barviva. Největší množství těchto pigmentů je obsaženo v tvrdé pšenici (*Triticum durum*), která se používá k výrobě semoliny. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

1.2.2 Mouka

Mouka rozhodujícím způsobem ovlivňuje vlastnosti těstovin. K výrobě jakostní mouky slouží především kvalitní pšenice s vysokým obsahem bílkovin: 12–16 %, tedy 36–50 % mokrého lepku). K tomu nejlépe slouží pšenice tvrdá – *Triticum durum*. Má sytě zbarvená, což naznačuje vysoký obsah žlutých a oranžových karotenových barviv, sklovitá zrna. Sklovitost zrn vychází z vlastností endospermu² a určuje průsvitnost těstovin, která je jednou z žádaných sensorických vlastností těstovin.

Polohrubá mouka vyrobená z této pšenice se nazývá semolina. Ve střední Evropě nelze tvrdou pšenici vypěstovat, a tak je Česká republika odkázána na dovoz. Částečnou náhradou může být mísení mouky z tvrdé pšenice s moukou vyrobenou z potravinářské pšenice nebo mouka pouze z již zmíněné potravinářské pšenice. (Müllerová & Skalický, 1985)

Lepek

Lepek je označení pro konkrétní skupinu glykoproteinů – tedy proteinů, na kterých jsou navázány sacharidy. Tento typ proteinů vzniká posttranslační modifikací – glykosylací proteinů. Pojmem lepek označujeme směs těchto proteinů, které jsou obsaženy v rostlinách – přesněji v rostlinách rodu trávovité (*Poaceae*), kam patří i pšenice, která je zdrojem mouky na

² Endosperm je živné pletivo, které tvoří vnitřní část zrna většiny krytosemenných rostlin. Slouží k zásobě sacharidů pro embryo, které obklopuje. (Slavíková, 2002)

výrobu špaget. U pšenice hovoříme o gliadinu a gluteninu (Shewry, Tatham, Forde, Kreis, & Mifflin, 1986), zatímco u ostatních obilovin, jako je například ječmen nebo oves se název těchto proteinů odvozuje od rodového názvu rostliny. Hordeiny u ječmene (*Hordeum*) nebo secaliny u žita (*Secale*). (Shuren, 2007) V rostlině nacházíme tyto proteiny v zrně – konkrétně v endospermu semene. V pšenici je obsah komplexu glykoproteinů až 85 %. Zatímco v rostlině mají tyto proteiny především zásobní funkci, v potravinářství se uplatňují hlavně jejich elastické a pojící vlastnosti. Tažnost a pružnost má u pšeničných výrobků na svědomí lepek, takže například u žitného těsta, které je tvořeno především polysacharidy, bychom tyto vlastnosti hledali marně. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003) Ne nadarmo i anglické pojmenování lepku ‚gluten‘, vychází z latinského *gluten* – lepidlo. (Shewry, Tatham, Forde, Kreis, & Mifflin, 1986)

Mokrý lepek

V potravinářství se setkáváme s pojmem ‚mokrý lepek‘. Lepek jako takový lze z těsta izolovat poměrně jednoduše, a to vypíráním proudem vody. Postupně se vyplavuje škrob a látky rozpustné ve vodě, až nakonec zbyde právě mokrý lepek, který má charakter pružného gelu. (Shewry, Halford, Belton, & Tatham, 2002)

Obsah lepku v mouce resp. optimální obsah mokrého lepku v mouce (35–45 %) je zodpovědný za vlastnost těstovin jak při výrobním procesu, tak i již hotového produktu. Díky obsahu mokrého lepku se těstoviny lisují pomalu, těsto je pevné, vláčné a vzniklé těstoviny jsou hladké. Při vaření nabývají velkého objemu a jsou odolné proti rozvaření – ideální pro vaření na italský způsob *al dente* – tzv. na skus. V případě těsta z pšenice s obsahem mokrého lepku pod 30 % se sice těsto lépe lisuje, protože klade menší odpor, ale vzniklé těstoviny jsou lepivé, nemají uspokojivou barvu a mají tendenci se rozvařovat. Naopak v případě, že zdrojem pro výrobu mouky byla pšenice s obsahem mokrého lepku vyšším než 40 %, je výkon lisu již znatelně snížen a je třeba zvýšit vlhkost a teplotu těsta. Tato mouka se hodí převážně pro dlouhé těstoviny – špagety. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

1.2.3 Voda

Voda je při výrobě těstovin recepturní složkou – používá se v přibližném poměru 24–30 % na mouku – a provozní složkou – chlazení, mytí (cca 100 % na mouku). Pro použití do těsta musí splňovat normu pro pitnou vodu, kvůli korozi by neměla reagovat kyselá a tvrdost by neměla

mít vyšší než 10–11 mmol na litr³. Vyšší obsahy Fe³⁺ a Mg²⁺ iontů mohou způsobovat tmavnutí výsledného produktu a znesnadňovat proces sušení. Zvýšené množství soli způsobuje, že těstoviny mají větší drobivost. Teplota používané vody se přizpůsobuje druhu pšenice a mouky, ze které je těsto tvořeno (viz kapitola Lepek) a druhu vyráběných těstovin. Většinou se užívá voda v rozmezí teplot 22–50 °C. Jak vyplývá z kapitoly Lepek výše – konkrétně pro výrobu špaget je přídavek vody do těsta nižší (25–26 %) a teplota vody a ostatních surovin o něco vyšší, než tomu bývá u výroby krátkých těstovin. Běžně uváděná teplota těst je mezi 28 a 30 °C. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

1.2.4 Vejce

Vejce se používají na zlepšení vlastností těsta i samotného produktu. Sleduje se barva, pevnost a objem, do kterého těstoviny nabývají. V případě, že se přidávají v nesušeném stavu, způsobují i větší křehkost těstovin, a proto bývají obsahy vajec v kratších těstovinách větší než v delších těstovinách – špagetách.

Používání vajec v těstovinách se v České republice liší od ostatních zemí. V zahraničí se přidávají kromě sušených vajec i čerstvá vejce, nebo vaječná melanž. V tuzemsku je zvykem přidávat do směsi sušená vejce. Co se množství týče, jde přibližně o 2–5 vajec na 1 kg mouky. Svým výzkumem budu toto ověřovat a budu porovnávat obsah vajec v různých druzích špaget s různým místem výroby. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Složení vejce

Vejce je produktem rozmnožovacího ústrojí kura domácího (*Gallus gallus*). Funkcí vejce je především vyživovat nově se vyvíjejícího jedince, a proto jsou jeho jednotlivé složky – zejména žloutek a bílek, tomu uzpůsobeny. (Benda, Babůrek, & Žďárský, 2000)

Žloutek

Žloutek tvoří přibližně 30 % objemu vejce a je stěžejním pro výživu embrya. Jedná se o tukovou emulzi ve vodním prostředí a můžeme zde nalézt tuky – především glyceridy, fosfolipidy a steroly (cholesterol) a rozpuštěné vitamíny A a D, vitamíny skupiny B a některé

³ Dříve se k vyjádření tvrdosti vody používala německá stupnice. Podle současných norem se tvrdost vody určuje jako součet vápníku a hořčíku v mmol/l. 1 mmol/l odpovídá podle německé stupnice 5,61°. Do 0,7 mmol/l je voda považována za měkkou, od 3,75 mmol/l za tvrdou. (www.pvk.cz/vse-o-vode/pitna-voda/vlastnosti-vody/tvrdest-vody/)

minerály, např.: železo, vápník nebo fosfor. Součástí žloutku jsou bílkoviny ovovitelin a v menší míře ovolivetin. Prekurzorem pro tyto bílkoviny je vitellogenin, který se syntetizuje v játrech a do vaječnicku je transportován krví. (Benda, Babůrek, & Žďárský, 2000) (Poustka, 2016)

Bílek

Další významnou složkou vejce je bílek, který je, jak už název napovídá, bohatší právě na bílkoviny. Hlavním proteinem je ovalbumin, který tvoří přes polovinu proteinového složení bílku. Další součástí jsou ovokonalbumin, ovomukoid a ovomucin (viz Tabulka 2). Bílek má vysokou viskozitu i přes to, že obsahuje až 88 % vody a jeho hlavními funkcemi jsou ochrana zárodku před vnějšími vlivy, udržení homeostázy a samozřejmě výživa zárodku. (Benda, Babůrek, & Žďárský, 2000) (Poustka, 2016)

Tabulka 2: Přehled proteinů a jiných látek obsažených ve vaječném bílku (Poustka, 2016)

Složka	Hmotnostní zastoupení v sušině (%)
ovoalbumin	54
ovotransferin - konalbumin	13
ovomukoid	11
lysozym	3,5
ovomucin	1,3-3
volná glukosa	0,4
glykoproteiny (manosa, galaktosa)	0,5
minerální látky	0,6

Skořápka

Zbytek vejce (přibližně 10 %) tvoří skořápka, která je tvořena uhličitanem vápenatým a mechanicky chrání před vejce před poškozením. Skořápka je propustná pro některé látky, z čehož pramení například problematika skladování vejce (viz kap. Chlazení, konzervace a mytí). Vejce obsahuje mimo jiné i pigmenty, které ovlivňují jeho zbarvení. U slepičích vajec může mít vejce buď bílou barvu, nebo různé odstíny hnědé a krémové. U ostatních ptačích druhů může být zbarvení rozmanitější právě na základě obsahu různých pigmentů. (Benda,

Babůrek, & Žďárský, 2000) Touto problematikou se zabývá celá řada odborných prací. (Wang, a další, 2017) (Brulez, a další, 2016)

Vznik vejce

Vejce se začíná tvořit ve vaječníku, který mají samice kura vyvinutý pouze jeden, a to levý. Je přichycen na stropě tělní dutiny a měří přibližně 2 cm. Během snášky se zvětšuje a nabývá hroznovitého vzhledu, který je způsoben folikuly, kterých dozrává přibližně tisíc. Na vaječník navazuje vejcovod, který je na začátku rozšířen. Na toto místo se po ovulaci, při které nevzniká žluté tělísko, uchycuje a je zde případně oploženo. Dále vejce putuje do části vejcovodu (magnum), ve které se vejce během tří hodin obalí bílkem. Ten je i s úpony (chelázami) tvořen slizničními žlázami. Dále vstupuje vejce do krčku navazujícího na dělohu, kde se vytvoří dvě papírové blány, na které v dalších 20 hodinách přibude i skořápka, která se tvoří v děloze. Na závěr je hotové vejce obaleno ochranným hlenovitým povlakem a po 24 hodinách jej slepice snese. K tomu, aby se z vejce vylíhl nový jedinec, je třeba, aby byla vejce po 21 dní udržována ve vhodné teplotě, tedy 38 °C. (Benda, Babůrek, & Žďárský, 2000)

Vejce jako potravina

Tím, že je vejce primárně určeno k výživě nového jedince, jsou všechny jeho složky maximálně výživné a stravitelné, aby poskytlo embryu naprosto hladký start do života. Právě pro svoje složení a stravitelnost je také velmi oblíbenou potravinou pro nás, lidi. Nejdominantnějšími složkami jsou bílkoviny a tuky – viz Tabulka 3.

Tabulka 3: Zastoupení jednotlivých složek slepičího vejce. (Poustka, 2016)

	Hmotnost	Voda	Bílkoviny	Tuky	Sacharidy
	(g)	(%)	(%)	(%)	(%)
Celé vejce	58	65,5	12,1	10,5	0,9
Skořápka	6	1,6	3,3	Stopové množství	-
Bílek	33	87,9	10,1	Stopové množství	0,9
Žloutek	19	48,7	16,6	32,6	1,0

Obzvláště v poslední době se s boomem zdravé výživy a fitness života, začali lidé zajímat o to, jaké potraviny požívají a jaké je jejich bílkovinné složení. Na toto téma vyšlo velké množství publikací (např. Walek a Tóth) a téměř v každé najdeme i kapitolu o bílkovinách, dávkování a formě, takže dnes má už téměř každý laik povědomí o proteinech a aminokyselinách. A i proto jsou vejce tak oblíbená. Hlavním důvodem oblíbenosti vajec v dietách je vysoká využitelnost a hlavně vstřebatelnost vaječných proteinů (Míková, Naše vejce: O vejci - Vejce jako potravina, 2010) a spolu s cenou červeného masa, vezmeme-li v potaz kolísající kvalitu drůbežího masa, jsou vejce jasným favoritem nejen pro vegetariány, ale i pro osoby, které jsou již masem přejedeni. Všestrannost vajec v kuchyni také napomáhá dlouhodobě vyšší konzumaci vajec v Evropě. (Morton, 2013)

Kromě proteinů je vejce bohaté i na vitamíny minerály – viz Tabulka 4 a 5.

Tabulka 4: Přehled vitamínů obsažených ve vejci
(Miková, Naše vejce: O vejci - Vejce jako potravina, 2010)

Vitamíny (µg)	Bílek (ve 100g)	Žloutek (ve 100g)	Celé vejce (ve 100 g)
Kyselina askorbová	0	0	0
Vitamín A (ekv.RE)	0	450	150
Vitamín D	0	4,5	1,5
Vitamín E	0	3 600	1 300
Tiamin	10	250	91
Riboflavin	430	480	447
Biotin	7	60	25
Vitamín B12	0,1	2,8	1
Kyselina pantotenová	250	4 500	1 700
Kyselina listová	12	140	60

Tabulka 5: Přehled minerálních látek obsažených ve vejci
(Miková, Naše vejce: O vejci - Vejce jako potravina, 2010)

Minerální látky (mg)	Bílek (ve 100g)	Žloutek (ve 100 g)	Celé vejce (ve 100 g)
Sodík	155	50	120
Draslík	140	100	125
Vápník	8	133	50
Fosfor	18	530	193
Železo	0,1	4,8	2,3
Zinek	0,12	3,9	1,3
Mangan	0,007	0,11	0,4
Jód	0,003	0,14	0,05
Selen	10	49	23

V Tabulce 4 můžeme vidět, že ve vejci jsou obsaženy všechny skupiny vitamínů kromě vitamínu C (kyseliny askorbové). Nejvíce jich je obsaženo ve žloutku, který slouží jako primární zdroj mikro a makro živin⁴ pro embryo. Jsou to hlavně vitamíny rozpustné v tucích, v bílku nalezneme naproti tomu vitamíny rozpustné ve vodě. Z minerálních látek bychom

⁴ Pojmem makroživiny označujeme proteiny, sacharidy a lipidy – tedy základní látky, které je třeba přijímat v potravě. Mikroživiny, tedy vitamíny a minerály jsou látky, které je třeba přijímat ve znatelně menším množství, nicméně jsou pro funkci organismu důležité stejně, ne-li více, jako makroživiny.

neměli zapomenout na vysoký obsah železa, fosforu, zinku (ve žloutku) a draslíku (v bílku). Ze stopových látek stojí za zmínku např. jód obsažený ve žloutku. (viz Tabulka 5) (Míková, 2010)

Cholesterol

Co se tuků týče, k vejcím neodmyslitelně patří rozsáhlé diskuze o cholesterolu, jeho obsahu ve vejcích a jiných potravinách a především jeho vlivu na lidské zdraví. Cholesterol má v lidském těle funkci při zpracovávání tuků, zásadně ovlivňuje permeabilitu buněčných membrán a je součástí některých hormonů. Jedná se o nepolární steroidní látku, kterou si tělo vytváří v játrech a pro její transport krví je třeba, aby se navázala na proteiny, se kterými tvoří tzv. lipoproteiny. Tyto lipoproteiny jsou zásadní pro koloběh cholesterolu a tuků v těle a dělíme je podle hustoty na tři třídy: vysokodenzitní lipoprotein – HDL (high density lipoproteins), nízkodenzitní lipoprotein – LDL (low density lipoproteins) a velmi nízkodenzitní lipoprotein – VLDL (very low density lipoproteins). V játrech sesbírané a rekonstruované, nebo nově vytvořené VLDL jsou krví distribuovány do míst, kde se z nich uvolňují vyšší mastné kyseliny. Zbytky VLDL - IDL (intermediate density lipoproteins)- jsou z poloviny navraceny zpět do jater, kde jsou obnovovány, a druhá polovina se dostává do kontaktu s jaterní lipázou a vznikají LDL. Dvě třetiny LDL tvoří cholesterol, který se vrací do jater, zatímco zbylá třetina LDL uvolní cholesterol do dalších tkání. Nadbytečný cholesterol v perifériích a v krvi sbírají HDL a vrací ho do jater, případně do žláz (varlat a vaječníků, kůry nadledvin), kde se z cholesterolu tvoří steroidní hormony. (Silbernagl & Despopoulos, 2016)

Zde můžeme navázat na laické rozlišení LDL a HDL cholesterolu. LDL jakožto ‚zlý‘ cholesterol je zodpovědný za ukládání cholesterolu v cévách, což může vést až k srdečně cévním onemocněním, zatímco ‚hodný‘ HDL jej sbírá a zaručuje jeho přeměnu nebo vyloučení z organismu. Proto tedy pojem ‚vysoký cholesterol‘ nemůžeme brát vždy za negativní výsledek lékařských testů. Je důležité znát poměr LDL a HDL. Nicméně vzhledem k tomu, že u zdravého jedince si tělo s nadbytečným LDL poradí, můžeme tedy předpokládat, že u zdravého člověka by neměla být zvýšená konzumace cholesterolu problémem, jelikož v těle již existují takové procesy, které jsou schopné se ho šetrně zbavit. Tímto tématem se ve spojitosti s konzumací vajec zabývaly mnohé studie, které potvrdily, že rozumná konzumace vajec nemá vliv na hladinu cholesterolu v krvi. (Fernandez, 2006) (Guo, a další, 2017) Doporučená denní dávka cholesterolu je 300 mg a jedno vejce obsahuje přibližně 175–200

mg. (Míková, 2010) (Walek & Tóth, 2015) Z toho vyplývá, že pokud budeme obden konzumovat dvě vejce a budeme dodržovat zdravou životosprávu, nemáme se čeho obávat.

Mastné kyseliny

Pokud hovoříme o lipidech, které jsou také součástí lipoproteinových partikulí, neměli bychom se vyhnout mastným kyselinám (MK). Mastné kyseliny jsou všestranné látky, které reagují v nejrůznějších procesech za vzniku různých látek a jsou součástí velkého množství biologicky aktivních sloučenin a procesů – buněčných membrán (fosfolipidy), nervové tkáně (glykolipidy), a také mají zásobní funkci. S alkoholy tvoří tuky – estery s glycerolem, esterifikací z nich vznikají vosky. Dělíme je podle délky řetězce – krátké, středně dlouhé, dlouhé, velmi dlouhé, nebo podle úrovně nasycení – nasycené nebo nenasycené. Nasycené mastné kyseliny neobsahují ve svém řetězci dvojně vazby a jsou běžnou součástí živočišných tuků, kde slouží jako zásoba energie. Právě tyto jsou látky, které na periferie distribuují lipoproteiny LDL. Naproti tomu nenasycené MK mají ve svém řetězci jednu a více dvojných vazeb a patří sem základní (esenciální) MK, které si lidské tělo neumí vytvářet samo a jejichž přítomnost v těle je pro nás zásadní. Některé kyseliny s více dvojnými vazbami ve svém řetězci (polynenasycené) jsou součástí mechanismu HDL a pomáhají snižovat množství LDL v krvi a tím i snižovat hladinu „zlého“ cholesterolu – jsou to především tzv. omega-3 nenasycené mastné kyseliny. Velká většina nenasycených mastných kyselin se v přírodě vyskytuje jako cis izomery. Například cis izomery mononenasycených mastných kyselin snižují hladinu cholesterolu tím, že pomáhají odbourávat LDL. Trans izomery proti tomu zvyšují množství LDL a tím i hladinu „zlého“ cholesterolu. Vyskytují se hlavně ve ztužených tucích a někdy i v tuku přežvýkavců. (Fialová, 2012) (Rédei, 2008)

Vejce obsahuje přibližně 6 g mastných kyselin. (Míková, Naše vejce: O vejci - Vejce jako potravina, 2010) Pokud budeme věnovat pozornost poměru PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acids – polynenasycené mastné kyseliny), zajímá nás zastoupení n-3 a n-6 řad⁵. PUFA n-6 nijak zásadně neovlivňují naše zdraví, zatímco u PUFA n-3 byly dokázány pozitivní účinky na srážlivost krve, pozitivní vliv na prevenci proti ateroskleróze (kornatění tepen), protizánětlivé vlastnosti a v neposlední řadě mají i dobrý vliv na zrak. Tyto pozitivní účinky jsou dány tím, že po staletí byl poměr n-3 a n-6 řad vychylován ve prospěch kyselin n-6 řady. Proto se může zdát, že zvýšený příjem kyselin n-3 řady má na tělo pozitivnější vliv než příjem

⁵ Označení n-3 a n-6 označuje umístění dvojně vazby v molekule mastné kyseliny. Kyseliny obou řad jsou výchozími látkami pro velké množství tělu prospěšných látek. (Wilhelm, 2013)

kyselin n-6 řady. Ve skutečnosti jde však o vyrovnávání po léta vychylované rovnováhy mezi oběma řadami. (Wilhelm, 2013) Tyto kyseliny jsou také důležité pro vývoj mozku a očí u dětí do 3 let (Míková, 2010), nicméně některé novější studie zabývající se vlivem suplementace PUFA n-3 na zdraví plodu a matky v těhotenství tuto souvislost 100% nepotvrdily (např.: (De Giuseppe, Roggi, & Cena, 2014) . Ideálním poměrem PUFA n-3 a n-6 je 1:1, od poměru 14:1 jsou již pozitivní vlivy n-3 řady zanedbatelné. Nejlepším zdrojem polynenasycených mastných kyselin jsou tučné mořské ryby, ale i ve vejcích nacházíme dobrý poměr PUFA n-6 a n-3. Tento se pohybuje mezi 6:1 a 14:1 a je možné ho ovlivnit skrz krmivo nosnic. (Walek & Tóth, 2015)(Míková, 2010)

1.2.4.1 Průmyslové zpracování

Vejce získaná v malochovech nebo velkochovech jsou za potravinu považována až ve chvíli, kdy jsou roztríděna, nebo případně dále zpracována. Jakost vajec se odvíjí od prostředí, do jakého se dostanou po snesení. (Míková, Zpracování vajec, 2012)

Balení, třídění

Jelikož je vejce živé médium, je třeba již od začátku dodržovat několik zásad. Vejce je třeba sbírat co nejrychleji po snesení. V klecových chovech toto obstarává sběrný pás, v podestýlkových a halových chovech k tomuto účelu slouží sběrná hnízda. Pokud nejsou k dispozici, je třeba vejce ručně sbírat aspoň 2x denně. Rozbitá nebo příliš znečištěná vejce je třeba okamžitě vyřadit. Kvůli porézní skořápce vejce velmi snadno podléhají mikroorganismům a velmi rychle se kazí. Proto je třeba je co nejdříve od snesení dostat k zákazníkovi. Mezitím musejí ovšem projít mikrobiologickou kontrolou pod veterinárním dozorem.

Vejce k přímé spotřebě – vejce skořápková konzumní

Tato vejce pocházejí buď přímo z farem, nebo ze zpracovatelských závodů – balíren a třídíren, které jsou veterinárně schválené a každá má své registrační číslo. Před balením jsou vejce skladována v teplotách mezi 5 a 18 °C a v relativní vlhkosti vzduchu 70–75 %.

Balírny a třídírny

Během třídění se vejce rozdělují do několika kategorií:

- Vejce pro přímý prodej
- Vejce pro skladování v chladírnách a na konzervaci

- Vejce určená na výrobu vaječných výrobků

Na třídění jsou speciální třídičky, které mohou mít různou kapacitu – podle velikosti farmy nebo závodu.

Vejce procházejí nejdřív vizuální kontrolou, kde jsou vyřazena vejce, která mají na první pohled viditelné vady, např. poškozenou skořápku. Další kontrola se provádí prosvěcováním – tedy vizuální kontrolou vnitřního obsahu vejce. Vejce nejlepší kvality (A a A extra) procházejí ještě hmotnostní kontrolou. Méně kvalitní vejce (B) se podle hmotnosti třídit nemusí.

Posledním úsekem je označování vajec. Každý kus musí být označen:

1. Kód způsobu chovu nosnic (1 – volný chov, 2 – halový chov, 3 – klecový chov, 0 – bio chov).
2. Země původu vajec.
3. Registrační číslo provozu, kde bylo vejce sneseno – poslední čtyři čísla.

Vejce se pro koncového spotřebitele balí do krabiček po 6, 12 nebo 20 kusech, nebo do plat po 30 kusech. Pro velkospotřebitele jsou vejce balena na palety nebo do kontejnerů, kde jsou uložena tak, aby se po cestě nepoškodila a zároveň byla v suchu a v čistotě.

Vejce, která těmito kontrolami neprošla a jsou určena na výrobu vaječných produktů, jsou většinou buď abnormálně tvarovaná nebo velická (případně malá) nebo mají špinavou nebo jen velmi lehce poškozenou skořápku. (Míková, Zpracování vajec, 2012)

Chlazení, konzervace a mytí

Jelikož produkce nosnic není celý rok konstantní⁶, je třeba mít zásoby, aby se tento nedostatek vyrovnal. K dlouhodobému skladování je třeba vejce chladit. Vejce, která jsou skladována pod 5 °C, nazýváme chladírenská. Chlazení brání procesu stárnutí vejce a zpomaluje rozvoj mikroorganismů. Teplota v chladírnách by neměla kolísat a také by neměla klesnout pod -2 °C, protože tehdy začíná vnitřek vejce mrznout. Teploty se tedy pohybují mezi -0,5 a -1,5 °C. Kromě teploty je třeba kontrolovat i vlhkost vzduchu. Příliš vysoká vlhkost podporuje tvorbu plísní a naopak při příliš nízké vlhkosti dochází k odpařování vody z vajec. Takto uložená vejce je možné skladovat až 9 měsíců.

⁶ U slepic dochází jednou za rok (většinou v období podzimu) k období tzv. přepeřování. Přepeřování trvá různě dlouhou dobu, většinou 2-3 měsíce. Jelikož se jedná o energeticky náročný proces, bývá snůška v tomto období menší. (Kulíková, 2013)

Nejznámějším způsobem konzervace vajec je olejování skořápky, která svou porézní strukturou vytváří otevřený systém, který je velmi náchylný na změny teplot, vlhkosti a snadno do něj pronikají mikroorganismy. Pokud jsou póry zakryty olejovým filmem zabrání se také úniku oxidu uhličitého a tím se zpomalí i změny pH bílku a s tím související změny uvnitř vejce. K zakrývání pórů se používají stabilní oleje, které nepodléhají oxidaci, případně vhodné pryskyřice. Na potahování se používají vejce, která nemají poškozenou skořápku a jsou čerstvá – potahují se do 24 hodin od snesení. Další variantou je skladování vajec ve speciální atmosféře s vysokým obsahem oxidu uhličitého, která, tak jako potahování, zabraňuje změně kyselosti bílku. (Míková, Zpracování vajec, 2012) Můžeme se potkat i s nakládáním vajec do roztoku křemičitanu sodného nebo ukládáním vajec do pšenice. Oba tyto způsoby mohou být použity v domácnosti, ale pro použití ve velkochovech se neosvědčily, ať už pro svoji finanční nebo energetickou nákladnost. (Chvostová, 2015)

Při mytí dochází k narušení přirozené kutikuly a ochranné bariéry vejce a i proto není mytí vajec v České republice používáno. Naopak je vhodné před výtlučkem, aby se snížila pravděpodobnost kontaminace vnitřního obsahu vejce bakteriemi z povrchu skořápky. Omytím se snižuje jejich čerstvost a omytá vejce by tedy pro koncového spotřebitele nesměla mít označení ‚čerstvá‘. (Míková, Zpracování vajec, 2012)

Výroba vaječných produktů

Vaječnými produkty myslíme samotné žloutky nebo bílky nebo celý vaječný obsah, tzv. melanz.

Výtlupek

Vejce je třeba zbavit skořápky a to se dělá buď strojově nebo ručně. Stroje se používají především v provozech s vyšší produkcí. Skořápky jsou okamžitě odstraňovány, aby nedošlo ke kontaminaci vaječného obsahu. K výtlučku se mohou použít všechna vejce. Tedy nejen konzumní skořápková, ale i chladírenská a i taková, která nebyla hmotnostně tříděna. Jedinými požadavky na vejce používaná k výtlučku je potravinářská jakost a zdravotní nezávadnost. Vejce, u kterých byly zjištěny obsahové a jiné vady, nesmí být použita.

Při oddělování žloutku a bílku je jejich sebemenší smíchání nežádoucí. I malý obsah žloutku v bílku mění jeho vlastnosti a schopnost tvořit pěnu, pro kterou jsou bílky především získávány. U velmi čerstvých vajec nebo vajec na začátku snášky je oddělování složitější. U čerstvých vajec také ulpívá na vnitřní straně skořápky více bílku (2–3 %), což snižuje výtěžnost. Po vytlučení se hmota filtruje, aby se odstranily případné zbytky skořápek a

chalazea⁷ a následně se hmota homogenizuje, aby měla v celém svém objemu stejnou hustotu a vlastnosti. Takto předpřipravená hmota se dá skladovat při 4 °C až 48 hodin. (Míková, Zpracování vajec, 2012)

Pasterace

Pokud vejce zahřejeme, dochází v průběhu skladování k Maillardově reakci. Jedná se o reakci, která způsobuje hnědnutí hmoty a ztrátu některých důležitých vlastností jako je například šlehatelnost bílku⁸. Ve vejci je přibližně 0,5 % volné glukosy, která je součástí těchto reakcí. Někdy se proto v rámci zabránění těchto reakcí přistupuje k tzv. odcukřování. Jedná se o odstranění glukosy pomocí mikroorganismů nebo pomocí enzymů. Nejčastěji se jedná o glukosaoxidasu a katalasu. Většinou se takto ošetřuje pouze bílek, ale je možné odcukřit i žloutek nebo melanz. K tomuto procesu se přistupuje před sušením, nejčastěji ještě před pasterací.

Jako ochrana před patogenními mikroorganismy, na které jsou vejce velmi náchylná, je legislativně podmíněno, že se vaječné obsahy musí pasterovat. Během pasterace se deaktivují enzymy a usmrtí se patogenní mikroorganismy, které nevytváří spory. Tím se zvýší zdravotní nezávadnost a prodlouží se doba, po kterou může být takto upravená vaječná směs skladována. Vzhledem k tomu, že vaječné proteiny denaturují při relativně nízkých teplotách, jsou možnosti pasterace celkem omezené. Je třeba najít teplotní kompromis, při kterém bude odstraněno co největší množství patogenů a zároveň nebude poškozena vaječná hmota. Účinnost pasterace není nikdy 100%, ale při použití teploty 61 °C po dobu přibližně 4 minut je úspěšnost usmrcení nežádoucích mikroorganismů kolem 99 %. Používají se dva principy pasterace:

- A. Stacionární – funguje na principu vodní lázně, než se celý obsah ohřeje na požadovanou teplotu, trvá to i 30 min. Tento systém se používá především na menších farmách.
- B. Průtoková – funguje na principu protiproudového průtoku na deskových nebo trubkových pasterech. Jelikož je ohřívána hmota v tenké vrstvě, stačí na ohřátí celého objemu na požadovanou teplotu jen 2,5–4 minuty. Tato metoda je využívanější a zároveň i spolehlivější díky snadnějšímu a kontrolovatelnějšímu prohrátí celého objemu vaječného obsahu.

⁷ Poutko, které spojuje žloutek s vnitřní blánou, čímž jej udržuje na středu vejce. (Veselovský, 2001)

⁸ Schopnost bílku tvořit dvoufázový disperzní systém, kde dispergovanou fází je vzduch. (Hrabě, Březina, & Valášek, 2006)

Teploty pasterace bílku, žloutku a melanže

Při 57,7 °C se začíná zvyšovat viskozita proteinů bílku a při 60 °C koagulují. Bílek je tedy třeba pasterovat při teplotách 56–57 °C, ale po přidavku aditiv nebo při vhodné konstrukci pasteru je možné se dostat až na teplotu 62 °C bez změn ve viskozitě a kvalitě hmoty. U žloutku teplo ovlivňuje kromě struktury proteinů i emulgační vlastnosti. Patogenní salmonely mají v žloutku větší tepelnou rezistenci než v bílku a to především díky vyššímu obsahu sušiny a nižšímu pH. I proto jsou pasterační teploty u žloutku vyšší – 60–68 °C. Při 71 °C dochází k funkčním změnám melanže, které se projeví na koncových produktech. Proto se melanž pasteruje při 64–65 °C po dobu minimálně 2,5 minut. Takto upravené hmoty se balí do různých druhů obalů, podle účelu a při dodržení skladovací teploty do 4 °C může být jejich trvanlivost, v případě moderního pasteru, až 35 dní.

Zmrazování

Zmrazování funguje na principu odstranění volné vody, která je stěžejní pro rozvoj mikroorganismů ve vejci, čímž se zamezí jejich množení a prodlouží se údržnost vejce. Při zmrazování je nežádoucí tvorba krystalizačních center, která poškozují vnitřní strukturu a tím ovlivňují koloidní vlastnosti hmoty. Aby taková centra nevznikala, je třeba, aby bylo zmrazování rychlé a teploty při skladování nekolísaly. Při -5 °C dojde ke zmrazení většiny volné vody a při skladovacích teplotách -18 °C je zmrazeno kolem 90 % volné vody v hmotě. Zmrazování hmoty se provádí v mrazicích tunelech při teplotě -40 °C. Vzhledem k obsahu vody mrzne nejrychleji bílek, žloutky a melanž mrznou pomaleji. Takto zmrazené hmoty se skladují při -18 °C (někdy při -12 °C) a lze je skladovat přibližně jeden rok. Bílek lze dokonce skladovat ještě déle. Během skladování zamrazených hmoty dochází ke změně jejich vlastností. Bílek má tendence řádnout a naopak u žloutku a melanže zaznamenáváme nárůst viskozity. I když zmrazením hmot zabráníme mikroorganismům v množení, některé organismy, které jsou schopné tvořit spory, nemají problém přečkat takto nízké teploty a po rozmrazení znovu pokračovat v rozvoji. Především proto se vaječná hmota před zmrazením vždy pasteruje a homogenizuje.

Při rozmrazování je důležité, aby proces proběhl rychle, ale zároveň, aby nedošlo k velkému rozdílu teplot, kdy ve středu bude hmota ještě zmrzlá, zatímco na povrchu se již začnou množit mikroorganismy, které přežily předchozí tepelné úpravy. Nejideálnější je rozmrazování v místnosti s nízkou teplotou, nebo proudící studenou vodou, v případě, že je hmota skladována v menších nádobách.

Od zmrazování se v dnešní době již upouští, kvůli náročnosti celého procesu i jak po finanční stránce, tak i náročnosti na prostor, nedokonalé nezávadnosti produktů a také kvůli složité manipulaci – hmota se musí dostatečně dlouho dopředu rozmrazit v přesném množství, jelikož jednou rozmrazená vejce už nemůžeme znovu zmrazit.

Předsušení

Ke zvýšení výkonnosti sušárny a tím ke snížení už tak energeticky náročného procesu, je třeba koncentrovat vaječnou hmotu. U bílku se zvyšuje koncentrace zhruba na dvojnásobek – tj. z 10 % na přibližně 20 % a u melanže z 23 % na 32–40 %. K tomu se využívá filtrace nebo osmózy. Vaječný žloutek má dostatečně velký podíl sušiny, a proto není třeba ho tímto způsobem upravovat. Před samotným sušením se přidávají aditiva ke zlepšení vlastností výsledných produktů. Konkrétně jsou to antioxidanty pro prodloužení údržnosti a vylepšení senzorických vlastností žloutku a melanže, emulgátory pro snadnější využití sušeného žloutku a stabilizátory pěny přidávané do bílku pro udržení rovnoměrné konzistence. Podle přidání aditiv se rozlišují dva druhy bílku – ke šlehání s přídavkem stabilizátorů a bez stabilizátorů jako přísada k tvorbě gelu.

Samotný proces sušení

V současnosti je nejčastější sprejové sušení. Princip spočívá v tom, že se směs rozprašuje na malé kapénky, čímž se zvýší její plocha a horkým vzduchem se vysušuje. Teplota vzduchu se s ohledem na sušenou směs pohybuje mezi 110 a 215 °C. K denaturaci bílkovin nedochází díky tomu, že v začátku sušení se ze směsi odpařuje volná voda, čímž se kapky chladí a teplota se v průběhu sušení snižuje tak, aby nedošlo k poškození struktury molekul proteinů. Díky koncentraci sušiny před procesem sušení, má hmota větší odolnost proti denaturaci, než kdyby bylo ve směsi přítomno větší množství vody. (Míková, Zpracování vajec, 2012)

1.2.5 Další přísady

Dalšími složkami těstovin jsou především zlepšující přípravky. Kvůli barvě se užívá např. kukuřičná mouka, která zlepšuje barvu a vlastnosti těstovin při vaření, sušené mléko a zelenina, barviva (převážně kurkuma) nebo vitaminy. Tyto přípravky nejsou součástí původních receptur, ale jsou často používané u speciálních druhů těstovin, jako jsou třeba zavářkové, vícebarevné nebo plněné těstoviny. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

1.3 Výroba

1.3.1 Historie

Na začátku 17. století se v Neapoli objevovaly základní stroje na výrobu těstovin. Později se začaly používat hnětací stroje a lisy, které zvětšily produkovaný objem a snížily cenu těstovin. V roce 1740 získala v Benátkách licenci první továrna na těstoviny. (Serventi & Sabban, 2002) Dalším významným posunem bylo založení továrny na těstoviny podle nejmodernějších trendů – tedy s využitím páry. Kolem roku 1867 už byl v Toskánsku plně zavedený italský podnik Buitoni Company, který úspěšně funguje dodnes. (Our Story: Buitoni, 2018) Ve 20. století se rozmohla přístrojová výroba a kolem roku 1914 byly již všechny větší továrny v Itálii automatizovány, díky čemuž se několikanásobně zvětšilo do té doby vyráběné množství těstovin. I to přispělo k rozšíření těstovin nejen na americký kontinent, ale i do jídelníčku většiny světa. Tomuto fenoménu se někdy přezdívá ‚The Industry of Pasta‘, tedy těstovinový průmysl. (History of Pasta, 2007)

V českých zemích určitě stojí za zmínku těstárna založena v roce 1884 bratry Vlastimilem a Dobroslavem Zátkovými. V Boršově nad Vltavou zahájili u obilného mlýna provoz tehdy největšího podniku v Rakousku-Uhersku. Největším problémem se nejdříve jevilo samotné sehnání zákazníků, jelikož do té doby byly hospodyně zvyklé si těsto na nudle válet samy a tovární výrobě a především její kvalitě nedůvěřovaly. Během první světové války nebyly těstoviny součástí tzv. vyživovacího plánu a všechny těstárny proto byly mimo provoz. Po válce bylo, mimo jiné, třeba navázat válkou narušené vztahy a obchodní vazby se zeměmi, které byly najednou odděleny nové vzniklou hranicí s Rakouskem a samozřejmě se připomenout původním zákazníkům v Čechách. Mezi válkami došlo především k modernizaci výroby, výstavbě nových továrních hal a firmě se dokonce povedlo vyhrát konkurz na dodávku těstovin do Singapur. Během druhé světové války a po ní byl majetek firmy zkonfiskován a Zátkova rodina byla donucena emigrovat. Zpět do původního vlastnictví se závod dostal až v roce 1994 a do provozu byly uvedeny nejmodernější italské linky na výrobu krátkých i dlouhých těstovin. (Historie společnosti, nedatováno) Právě kvůli historii této společnosti jsem mezi své vzorky zařadila i vaječné špagety značky Zátkovy těstoviny.

1.3.2 Výroba dnes

Příprava surovin a jejich dávkování

Nejlepší kvality těstovin je dosaženo, pokud je zachována co nejdokonalejší homogenita těsta. V dnešní době je konstantní přidávání surovin zajištěno automaticky. Mouka i předpřipravené směsi vajec a dalších surovin se do těsta přidávají pomocí dávkovacích vah, aby byl přídavek

kontinuální. Po zhomogenizování směsi je těsto dopraveno nad lis. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Mísení, hnětení, lisování a řezání

K mísení a hnětení dochází pod tlakem přímo v lisu, kam se ke směsi přidá voda. Přídavek vody je zhruba 30 %, u semoliny je to přibližně o 1 % víc. Doba hnětení se odvíjí od vlastností surovin a od vlastností přístroje, ve kterém těsto vzniká. Obecně se dá doba mísení vyvodit ze vzdálenosti, kterou těsto urazí. K ideálnímu promíchání dochází při vzdálenosti 6–7,5 metru. V průběhu mísení dochází samovolně ke zvyšování teploty, což může ovlivnit vlastnosti těsta. U moderních přístrojů je proto součástí hnětacího prostoru i chlazení, případně vývěva, díky které dochází k mísení ve vakuu o nastavitelné hodnotě, která se pohybuje většinou okolo 75 kPa. Kvůli vakuu nedochází například k pruhovitosti těstovin, která vzniká kvůli kyslíkovým bublinám, které způsobují oxidaci karotenových barviv ve svém okolí. Ideální teplota pro práci s těstem je mezi 43 a 45 °C. Při nižší teplotě má těsto tendenci ulpívat na ploše nádoby a drolit se, naopak při vyšších teplotách (nad 50 °C) dochází ke křehnutí těsta, nežádoucímu šednutí a v neposlední řadě i ke snížení výkonu lisu. Výsledná hmota je posouvána do výtlačného šneku a dál skrz matrici, která určuje tvar výsledného výrobku. Dlouhé těstoviny se po odkrojení zavěšují a pro odstranění vlhkosti na povrchu se ofukují horkým vzduchem. Pokud by se přebytečná voda neodstranila, docházelo by ke slepování jednotlivých kusů. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Předsušení, samotné sušení

Předsušení má dvě fáze: rychlé předsušení vzduchem po dobu mezi 20–90 minutami, kdy dojde ke snížení vlhkosti z původních cca 30 % na 22–24 %, a pomalé dosušení teplým vzduchem o stejné teplotě: 33–45 °C – po dobu 6–12 hodin, kdy se vlhkost výrobků sníží na konečných přibližně 13 %. Tyto procesy jsou bedlivě sledovány a postupy pečlivě dodržovány, jelikož příliš rychlé nebo pomalé sušení výrazně ovlivňuje vlastnosti výsledného produktu. Nesprávně sušené těstoviny se snáze rozvaňují, lepí se, nebo mají větší lomivost a tendenci se kroutit.

Při lisování dlouhých těstovin jsou pod lisem umístěny sušící tyče, na které se těstoviny ihned po odříznutí věší. Na těchto tyčích setrvávají těstoviny po celou dobu sušení, které trvá od 30 do 40 hodin a probíhá v tunelových sušárnách. Během předsušení a sušení se teplota prvních 60–90 minut spolu s vlhkostí vzduchu zvyšuje a po přechodu na samotné sušení jsou naopak těstoviny v prostředí o postupně se snižující teplotě a vlhkosti, až jejich obsah vody klesne z 20 % na konečných 12,5 %. Mezi předsušením a samotným sušením se využívá zařízení

zvané Rothoterm, které na velmi krátkou dobu zahřeje těstoviny až na 80 °C. Tímto zahřátím dochází nejen ke sterilaci těstovin, ale díky stabilizaci lepkových vláken jedním směrem také k jejich zpevnění. Dalším bonusem je jednorázová ztráta zhruba 1 % vody, které ovšem ve výsledku zkrátí dobu sušení i o 5 hodin. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

Skladování a balení hotových produktů

Usušené špagety jsou skladovány na tyčích, na které byly zavěšeny ihned po vytlačení z matrice a na kterých se sušily. Těstoviny se balí většinou do plastových fólií po půl kilových balení. Obal chrání produkt před mechanickým poškozením, zajišťuje hygienickou čistotu a v neposlední řadě plní i marketingovou funkci prodeje. (Příhoda, Skřivan, & Hrušková, 2003)

1.4 Metody použité k analýze vaječných proteinů

1.4.1 Spektrometrické metody

UV–VIS spektrofotometrie často využívá přítomnosti aromatických aminokyselin ve vzorku pro zjištění obsahu proteinů ve vzorku. Tato metoda se někdy používá spolu s biuretovým činidlem. Například v roce 2015 byla úspěšně použita při studii ke stanovení proteinů ve vzorcích vaječného bílku. Jako referenční metoda zde byla zahrnuta i níže zmíněná Kjeldahlova metoda. (Birghila, Bratu, Prajutira, Roncea, & Negreanu-Pirjol, 2015)

1.4.2 Metody používané v potravinářství ke kontrole kvality

V praxi se využívá především metod kvantitativních, tedy metod, které nezkoumají, jaké konkrétní bílkoviny se v produktu nachází, ale ověřují především jejich množství. V praxi se k určení obsahu vajec ve výrobku používá stanovení obsahu cholesterolu. Touto metodou určíme orientační množství vaječných bílkovin, ale nikoliv konkrétní proteiny.

1.4.3 Kjeldahlova metoda

Tato metoda spočívá ke zjištění obsahu dusíku ve vzorku. Vzorek se spolu s kyselinou sírovou a peroxidem vodíku zahřívá a přítomný dusík je převeden na amoniak. Ten je ve směsi vázán ve formě síranu amonného, jehož množství je zjištěno titrací. Jelikož bílkoviny obsahují přibližně 16 % dusíku, dá se přes specifický koeficient vypočítat množství bílkovin ve vzorku. I když se jedná o mezinárodně uznávanou metodu, pro použití v praxi je příliš zdlouhavá. Někdy se ale používá se jako referenční metoda pro některé materiály. (Koplík)

1.4.4 Měření obsahu cholesterolu pomocí plynové chromatografie

V roce 2014 zveřejnil časopis dTest velký test špaget, ve kterém byly kromě senzoričkových a technologických vlastností hodnoceny i chuť a obsah vajec. Časopis uvádí, že k tomuto testu byla použita metoda plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC/FID) (<https://www.dtest.cz/testy-vyrobyku-481/spagety-vajecne>). Množství vajec bylo stanovováno podle zjištěného obsahu cholesterolu, což je v tomto případě běžná praxe. (Koplík)

1.4.5 Metody používané k proteinovým rozborům

Proteiny, jejich strukturou, funkcí a obsahu v organismech se zabývá proteomika. Kromě samotných proteinů studuje i jejich modifikace, úpravy a jejich vzájemné reakce. V rámci proteomiky jsou využívány dva hlavní typy metod – viz níže. (Graves & Haystead, 2002)

1D a 2D gelová elektroforéza

Jedno-dimenzionální (1D) gelová elektroforéza separuje proteiny na základě jejich molekulových hmotností. Nejčastějším využitím 1D elektroforézy je kromě určení přibližné hmotnosti proteinů, separace proteinů z komplexních směsí pro jejich další analýzu např. hmotnostní spektrometrií. To proto, že jednodimenzionální gelová elektroforéza nemá dostatečné rozlišovací schopnosti na složitější proteinové směsi. K analýze takových směsí se používá 2D gelové elektroforéza. Proteiny jsou rozděleny kromě molekulových hmotností i na základě svých nábojů. Tato metoda je oblíbená zejména proto, že dokáže rozlišit i proteiny, které prošly modifikací, která způsobila změnu náboje nebo molekulové hmotnosti. (Graves & Haystead, 2002) K analýze proteinů ve vejci byla elektroforéza použita již v roce 1940. (Longsworth, Cannan, & MacInnes, 1940)

Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (podrobněji popsána v kapitole 1.5) je v poslední době velmi často využívanou metodou zjišťování složení a kvality potravin. Díky tandemu jednotlivých separačním a analytických metod je její použití relativně rychlé i přesné a lze s ní analyzovat velké množství anorganických i organických látek. (Rubert, Zachariasova, & Hajslova, 2015)

Touto metodou lze určit konkrétní proteiny vyskytující se ve vzorku, což umožňuje získávat kompletní přehledy a seznamy proteinů v jednotlivých látkách. Například v roce 2007 bylo ve vaječném bílku pomocí hmotnostní spektrometrie objeveno 54 proteinů, které do té doby nebyly ve vejci identifikovány, čímž se zkompletoval seznam proteinů vaječného bílku. (Mann, 2007)

Studie, které využívají hmotnostní spektrometrii k analýze těstovin se většinou nezaměřují na prokázání vaječných proteinů, ale hledají ve výrobcích toxiny nebo jiné specifické přísady a látky. K takovému účelu je hmotnostní spektrometrie ideální, jelikož z výsledného přehledu je na první pohled zřejmé, které proteiny jsou jiného původu než ostatní, běžné komponenty výrobku. Takových studií je dispozici poměrně velké množství a velká většina z nich se zabývá specifickými druhy těstovin. Například studie z roku 2016 se zabývala předvařenými pohankovými těstovinami a zkoumala obsah polyfenolických antioxidantů, které jsou zodpovědné za zdravotní benefity, které pohanka poskytuje. Po separaci byly vzorky úspěšně analyzovány metodou HPLC-ESI-MS/MS (high-performance liquid chromatography and electrospray ionisation mass spectrometry). (Oniszczuk, 2016)

V další ze studií byla použita hmotnostní spektrometrie k analýze toxinů přítomných v semolinových těstovinách. (Tolosa, a další, 2017)

1.5 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je dnes již běžně rozšířená metoda, která analyzuje vzorek na základě hmotnosti jednotlivých komponent (iontů). Nejprve je třeba převést vzorek do roztoku a následně na plyn. Plyn je pomocí vhodného iontového zdroje ionizován a následně vzniklé nabitě částice jsou detekovány. Výsledkem jsou hmotnostní spektra, kde jsou zaznamenané ionty látek, které byly ve vzorku obsaženy. (Vřešťál, 2000)

1.5.1 Metoda LC-ESI-Q-TOF

K rozboru vzorků byla použita metoda LC-ESI-Q-TOF. Jedná se o sérii po sobě jdoucích analytických metod: LC – (Liquid Chromatography) kapalinová chromatografie, ESI – (Electrospray Ionisation) elektrosprejová ionizace, Q – (Quadrupole) kvadrupól – tedy čtyřpólový analyzátor, TOF – (Time Of Flight) doba letu – analyzátor založený na sledování doby letu nabitě částice.

1.5.2 Kapalinová chromatografie

Jedná se o v principu velmi jednoduchou metodu, založenou na rozdílné rozpustnosti komponent vzorku v mobilní a stacionární fázi. Vzorek nanese na kolonu se stacionární fází (např. silikagel) a pomocí mobilní fáze necháme vzorek unášet skrz kolonu. Na základě rozdílné afinity jednotlivých komponent vzorku ke stacionární fázi se některé složky vzorku nechají unášet mobilní fází rychleji než jiné a tím dojde k jejich separaci. (Klouda, 1996)

1.5.3 Elektrosprejová ionizace

K ionizaci vzorku je třeba iontový zdroj. Podle způsobu ionizace rozdělujeme zdroje na dvě skupiny: měkké a tvrdé. V případě analýzy proteinů je třeba použít měkký zdroj, který má sice dostatečnou energii k ionizaci vzorku, ale ne tak velkou, aby vzorek fragmentoval a tím pádem znehodnotil. Tvrdé zdroje mají příliš vysokou energii a organické látky, které mají hranici ionizačních energií mezi 7 a 16 eV, by poškodily. Právě ionizace elektrosprejem, která se řadí mezi měkké ionizace, je vhodná pro analýzu proteinů a dalších organických látek. (Němcová, Engst, & Jelínek, 1998)

K ESI postupně přichází jednotlivé složky vzorky po svém rozdělení kapalinovou chromatografií a pomocí vysokého napětí jsou z ústí přírodní kapiláry rozprášeny na drobné kapénky, které mají díky vloženému napětí na svém povrchu náboj. K uvolnění iontů z kapének dochází jejich postupným vysoušením, kterým se zmenšuje jejich povrch a přitom se zvyšuje povrchové napětí. Po překročení určité hranice je kapička ‚roztrhána‘ na jednotlivé ionty. Ty jsou dále převedeny do analyzátorů – např. kvadrupólu (1.4.1.3) nebo analyzátoru doby letu (1.4.1.4). (Milde, 2010)

1.5.4 Kvadrupól

Kvadrupól je analyzátor pojmenovaný po čtyřech pólech, které jsou tvořeny čtyřmi tyčemi, do kterých je dodáváno stejnosměrné a střídavé napětí. Mezi nimi tak vzniká střídavé elektrické pole, ve kterém jsou nabitě ionty kvůli svému náboji různě dlouho nesený. Podle nastavení pole je možné vyselektovat jen některé ionty na základě jejich hodnoty m/z (m – hmotnost, z – náboj). (Klouda, 1996) (Němcová, Engst, & Jelínek, 1998)

1.5.5 Analyzátor doby letu

Na závěr jsou ionty vystaveny silnému elektrickému poli uvnitř analyzátoru doby letu. Na základě doby jejich průletu skrz analyzátor počítač vyhodnotí jednotlivá spektra. V principu jde o to, že počáteční energetický impuls (stejná hodnota kinetické energie) je stejný pro všechny ionty. Nicméně jejich rozdílná hmotnost způsobí, že k detektoru doletí některé rychleji než jiné (lehčí ionty se pohybují rychleji než ty těžší). Výsledná spektra jsou vytvořena porovnáním doby letu s referenčními údaji v databázích. (Němcová, Engst, & Jelínek, 1998)

2 Experimentální část

2.1 Použité chemikálie

- Acetonitril (ACN) (Sigma)
- Hydrogenuhličitan amonný (Fluka)
- Kyselina trifluoroctová (TFA) (Sigma)
- Trypsin (PierceTM Trypsin Protease, MS-Grade)

2.2 Použité roztoky

- 50 % roztok acetonitrilu jako aktivační roztok pro Zip-Tip
- 0,2 % roztok kyseliny trifluoroctové jako ekvilibrační roztok
- 0,1 % roztok kyseliny trifluoroctové v 50 % roztoku acetonitrilu jako eluční roztok pro Zip-Tip
- 50mM roztok hydrogenuhličitanu amonného jako roztok na ředění trypsinu
- Roztok trypsinu – 14 μ l (20 μ g) v 700 μ l 50mM NH_4HCO_3
-

2.3 Použité přístroje a pomůcky

- Analytická kolona AcclaimPepMap RSLC C18 (75 μ m x 150 mm, Dionex)
- Analytické váhy HR-60-EC (A&D Instruments, Japonsko)
- Hmotnostní spektrometr ESI-Q-TOF MaxisImpact (Bruker Daltonics)
- Kapalinový chromatograf Ultimate 3000 RSLC nano (Dionex, Německo)
- Zachytávací kolona AcclaimPepMap 100 (100 μ m x 2 cm, Dionex)
- Zip-Tip špičky s reverzní fází C18 (Milipore, USA)

2.4 Vzorky

K rozboru jsem si vybrala 12 vzorků běžně dostupných špaget z větších řetězců situovaných v mém nejbližším okolí – tedy TESCO, Albert, BILLA, a běžně dostupné značky jako např.: Panzani, Zátkovy, Albert quality a jiné (Tabulka 6).

Tabulka 6: Přehled vzorků k analýze

Název	Kód	Obsah vajec podle výrobce (uvedená % jsou hmotnostní)	Navážené množství (mg)
Rosické	BRE	‘bezvaječné’	1,1
Riscossa	BRS	‘bezvaječné’	1,1
Panzani 3min	S3M	‘výrobek může obsahovat stopy vajec’	1,0
Panzani 8min	S8M	‘výrobek může obsahovat stopy vajec’	1,1
Panzani 11min	S11M	‘výrobek může obsahovat stopy vajec’	1,0
Albert	SAL	‘výrobek může obsahovat stopy vajec’	1,1
Špagety	SS	‘výrobek může obsahovat stopy vajec’	1,0
Tesco čerstvé	VTC	‘vejce 15 %’	1,0
Tesco 4 vaječné	V4V	‘vejce 18 %’	1,1
Premium	VPR	‘sušený vaječný žloutek pasterovaný 2 %’	1,1
Zátkovy	VZY	‘sušená vejce (2 %)’	1,1
Česká chuť	VCC	‘sušený vaječný žloutek pasterovaný 2 %’	1,0

Vzorky jsem volila především na základě cílů této práce – tedy srovnat obsah vajec ve vaječných a bezvaječných těstovinách a zjištění obsahu vajec ve špagetách, jejichž výrobce na obalu uvádí, že ‘mohou obsahovat stopové množství vajec’. Vybrala jsem tedy dvanáct vzorků: dva vzorky bezvaječných špaget – Rosické a špagety značky Riscossa; pět vzorků špaget obsahujících stopové množství vajec – Panzani – tři vzorky s různou dobou varu (3, 8 a 11 minut), Albert špagety, Špagety; a pět vzorků vaječných těstovin – TESCO čtyřvaječné, špagety Česká chuť, špagety značky Premium, TESCO čerstvé vaječné těstoviny a Zátkovy.

2.4.1 Příprava vzorků

2.4.1.1 Štěpení trypsinem

Trypsin je enzym ze 3. třídy hydrolas, konkrétně se jedná o proteasu. Trypsin se nachází ve dvanáctníku, kde štěpí peptidové vazby v proteinech za aminokyselinami argininem a lysinem. Vzniká ve formě proenzymu trypsinogenu ve slinivce břišní a dále je ve dvanáctníku aktivován na svoji aktivní formu – trypsin.

Nadrčené a navážené vzorky byly vystaveny působení roztoku trypsinu. Bylo dbáno na úplné ponoření vzorků a dvouhodinovou dobu štěpení při laboratorní teplotě.

2.4.1.2 Přečištění vzorků

Vzorky byly pročištěny třemi roztoky: aktivačním (*wetting*) (50% vodný roztok ACN), ekvilibračním (0,2% vodný roztok TFA) a eluční (roztok 50% ACN a 0,1% TFA) v tomto pořadí:

- 1) Aktivace wetting roztokem – 10 μ l – 10 opakování
- 2) Ekvilibrace ekvilibračním roztokem – 10 μ l – 10 opakování
- 3) Promytí roztokem vzorku – 10 μ l – 10 opakování
- 4) Propláchnutí ekvilibračním roztokem – 10 μ l – 10 opakování
- 5) Vymytí elučním roztokem – 8 μ l – 10 opakování
- 6) Konečné pročištění špičky 10 μ l elučního roztoku – 10 opakování

3 Výsledky a diskuze

Nalezené proteiny byly vyhledávány v databázi UniProt. Vzhledem ke složení a výsledkům jsou ve výsledcích uvedeny i nalezené pšeničné proteiny a jejich funkce.

Jelikož je tvrdá pšenice (*Triticum durum*) šlechtěna přímo z běžné pšenice (*Triticum aestivum*), není bohužel v rozlišovacích schopnostech metody tento poddruh identifikovat. Proto je ve výsledcích u všech proteinů pšeničného původu uvedena *Triticum aestivum*.

3.1 Očekávané a nalezené proteiny a jejich rozdělení

3.1.1 Vaječné proteiny

Ovoalbumin

Ovoalbumin tvoří největší část vaječných proteinů v bílků. Svou strukturou je velmi podobný proteinům skupiny SERPIN, jejichž hlavní funkcí je inhibice aminokyseliny serinu. Podobnost struktury je však jediné, co je spojuje. Funkce ovoalbuminu není stále jasná. Předpokládá se, že se jedná o zásobní protein. (Gettins, 2002) Tento protein nebyl v žádném ze zkoumaných vzorků identifikován

Ovotransferin - konalbumin

Ovotransferin patří do skupiny proteinů, které se podílí na přenosu železa a zároveň je součástí metabolismu proteinů produkovaných při teplotním šoku. Pokud jsou tyto proteiny součástí kůže, poskytují ochranu proti stresu způsobenému nízkými teplotami a dalšími vnějšími faktory. (Fordras S.A. Nutraceutical Ingredients, Functional Food, Pharmaceutical API And Culture Media : Ovotransferrin, 2017) Tento protein nebyl ve zkoumaných vzorcích identifikován.

Ovomukoid

Ovomukoid je glykoprotein, který se podílí na regulaci proteas. Konkrétně je inhibuje. Zajímavé je, že ovomukoid kura domácího (*Gallus gallus*) inhibuje trypsin ovčího i prasečího původu, ale nikoliv lidského. (Sturkie, 1999) Tento protein nebyl v žádném ze zkoumaných vzorků identifikován.

Lysozym

Lysozym je enzym, který je součástí imunitního systému zvířat. Jedná se o glykosidovou hydrolasu, která katalyzuje hydrolýzu některých proteinů ve stěnách gram pozitivních bakterií. (Manchenko, 1994) Tento protein nebyl ve zkoumaných vzorcích identifikován.

Ovomucin

Jedná se o glykoprotein vyskytující se ve vaječném bílku. Skládá se ze dvou podjednotek a tak jako ostatní proteiny mucinové skupiny se podílí na tvorbě gelových struktur. (Hiidenhovi, 2007)

Ovovitelin a ovolivetin

Prekurzorem pro tyto proteiny je vitellogenin. Jedná se o proteiny vaječného žloutku, které jsou součástí hormonálního řízení rozmnožovací soustavy samic. Vitellogenin se vyskytuje i u jiných organismů, kde má podobné funkce. Ale například u včel je tento protein součástí více procesů jako třeba hormonální regulace nebo receptorové funkce. (Hefetz & Grozinger, 2016) Ve vzorcích byl identifikován apovitellenin, který je součástí rodiny proteinů podílejících se na řízení rozmnožovací soustavy kura.

3.1.2 Pšeničné proteiny

Vzhledem k tomu, že cílem této práce je zjistit složení stejného produktu různých značek, je zřejmé, že se nalezené proteiny budou opakovat u více vzorků. Zde jsou uvedeny všechny proteiny pšeničného původu, které byly ve vzorcích identifikovány.

3.1.2.1 Zásoba nutrientů

gama gliadin, globulin, glutenin, GSP-1 grain softness protein, rodina kupinů,

Globuliny

Globuliny (konkrétně např. legumin, fazeolin) jsou proteiny, které mají mnoho funkcí. Ty, které byly nalezeny ve zkoumaných vzorcích, slouží především k zásobě nutrientů, tedy látek, které jsou přítomny v semenu a jsou připraveny vyživovat novou rostlinu. (Nováček, 2017)

Gluteniny a gliadiny

Gluteniny a gliadiny jsou hlavními součástmi lepku (Shewry, Halford, Belton, & Tatham, 2002). Nacházejí se v endospermu zrna (cca 10 %) a jsou nerozpustné ve vodě. V rostlině slouží jako výživa při klíčení nové rostliny a v mouce, která je vlastně rozemletým

endospermem, mají vliv na kyprost a zachování tvaru pečiva. (Benda, Babůrek, & Žďárský, 2000)

Glutenin

Glutenin je hlavním proteinem pšeničné mouky, tvoří až 47 % celého bílkovinného obsahu. Tvoří vysoko a nízko-molekulární podjednotky a je zodpovědný za elasticitu a viskozitu těsta. Patří do třídy glutelinů, které nacházíme v endospermu lipnicovitých (*Poaceae*), kam patří i pšenice setá (*Triticum aestivum*). (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2004) Gluteliny jsou bohaté na hydrofobní aminokyseliny s obsahem fenylalaninu, valinu, tyrosinu, prolinu a leucinu. (Elwart, 1967)

Gama gliadin

Gliadin je svým aminokyselinovým složením velmi podobný gluteninu, ale můžeme zde najít jisté rozdíly. Gliadin je bohatší na prolin, glutamin a glutamovou kyselinu, cystein, fenylalanin a isoleucin. (Elwart, 1967)

Kupiny (superodina)

Kupiny jsou skupina proteinů pojmenovaných podle β -barelového skladu – *cupa* znamená latinsky barel, kád' nebo sud. Kromě společné struktury obsahují všechny kupiny histidin, který tvoří vazebné místo oxalát oxidasy. (Dunwell, 1998)

Rodina kupinů obsahuje jednodoménné bakteriální enzymy (podílející se na přestavbě sacharidů v buněčných stěnách), dvoudoménné ‚bikupiny‘, kterými jsou například vysychání odolné zásobní globuliny, nebo vícedoménné ‚transkripční faktory‘.

Většina enzymatických kupinů obsahuje ionty mědi, zinku, kobaltu, niklu nebo manganu jako kofaktory, které umožňují kvartérní strukturu reagovat v různých chemických reakcích. (Dunwell, Purvis, & Khuri, Cupins: the most functionally diverse protein superfamily?, 2004)

GSP-1 Grain Softness Protein

Tento protein je součástí komplexu proteinů zodpovědných za tvrdost zrn je a podílí se na fylogenezi rostliny. (Morris, Geng, Beecher, & Ma, 2013)

Je obsažen v endospermu zrna a studie z roku 2013 shrnuje, že oproti ostatním proteinům ze stejné skupiny je poměrně složité tento protein izolovat kvůli jeho malému genetickému

projevu. Obecně je oproti puroindolinům⁹ velmi málo prozkoumaný. (Elmorjani, Geneix, Dalgalarondo, Branlard, & Marion, 2013)

Histony

Histony jsou bohaté na aminokyseliny, které jsou kladně nabitě, např.: lysin a arginin. Jejich polarita zajišťuje rozpustnost histonů ve vodě. Histony jsou součástí jádra, konkrétně chromatinu, eukaryotických buněk. Na základě objevu histonů s podobnými vlastnostmi v archebakteriích a v eukaryotických buňkách dokázali vědci příbuznost těchto dvou skupin. (Reeve, a další, 2004)

3.1.2.2 Katalytické reakce

beta amylasa, fosfoglycerát kinasa, fruktosa-bifosfát aldolasa, glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa, malát dehydrogenasa, nukleosid difosfát kinasa, rRNA N-glykosidasa

Proteiny, které jsou součástí katalytických reakcí, jsou především enzymy.

Beta amylasa

Beta-amilasa je enzym účastnící se hydrolýzy α -D-glykosidických vazeb v polysacharidech v rámci odstranění maltosových jednotek z neredukujících konců řetězců. K tomuto ději dochází při zrání plodů, kdy beta-amilasa rozkládá sacharidy na jednotlivé glukosové jednotky. (Manners, 1963)

Fosfoglycerát kinasa

Tento protein je součástí glykolýzy. Konkrétně katalyzuje vznik fosfoglycerátu za vzniku ATP. (Nicholls & Ferguson, 2013)

Fruktosa bisfosfát aldolasa

Jedná se o enzym ze třídy lyas, který se podílí na metabolismu glykolysy. Štěpí fruktosa-1,6-bisfosfát na glyceraldehyd-3-fosfát a dihydroxyaceton-fosfát. V rámci glukoneogenese katalyzuje obrácenou reakci. (Vydavatelství VŠCHT - Knihy, 2014)

⁹ Puroindoliny a a b jsou hlavními proteiny ovlivňující tvrdost zrn. Pokud jsou obě formy v původním, neupraveném a aktivním stavu, textura zrna a výsledné mouky je jemná. Pokud alespoň jeden z proteinů chybí, je zmutován nebo prošel nějakou modifikací, textura zrna a mouky bude hrubá. V zrnech tvrdé pšenice (*Triticum durum*) nenacházíme ani jeden z těchto proteinů – její zrna jsou tvrdá a výsledná textura mouky je hrubá. (Morris C. , 2002)

Glyceraldehyd-3 fosfát dehydrogenasa

Glyceraldehyd-3 fosfát dehydrogenasa je protein, který se účastní šestého kroku glykolýzy, kdy se jako oxidoreduktasa účastní přeměny glyceraldehyd 3-fosfátu na D-1,3-difosfoglycerátu. Kromě toho se účastní i některých buněčných dějů, jako třeba apoptosy, kterou aktivuje. (Tarze, a další, 2007)

Malát dehydrogenasa

Malát dehydrogenasa je enzym, který katalyzuje reverzní oxidaci malátu na oxalacetát pomocí redukce NAD^+ na NADH. Tato reakcí je součástí citrátového cyklu. (Minárik, Tomášková, Kollárová, & Antalík, 2002)

Nukleosid difosfát kinasa

Nukleosid difosfát kinasa je enzym, který se účastní konverze nukleotidů na deoxynukleotidy v rámci metabolismu syntézy nukleových kyselin. (Voet, Voet, & Pratt, 2013)

rRNA N-glykosidasa

Jedná se o enzym, který katalyzuje hydrolýzu glykosidické vazby v rRNA. (Endo & Tsurugi, 1988)

3.1.2.3 Další nalezené proteiny

Rodina ‚Coiled coil‘ (vinutá cívka)

Jedná se o skupinu proteinů, jejichž společným znakem je několikrát opakovaná trojitá helikální skládaná struktura. Jde o proteiny se stavební funkcí. (Nicolas, Dalalande, Hubert, & Le Rumeur, 2014)

Proteiny domény LEA (Late embryogenesis abundant – proteiny hojné pozdní embryogeneze)

Funkce těchto nízkomolekulárních proteinů je ochrana vyšších rostlin před poškozením suchem. (Hong-Bo, Zong-Suo, & Ming-An, 2005)

Proteiny domény Ubiquitin

Tyto globulární jednotky jsou součástí procesu degradace bílkovin. Svým připojením na bílkovinu ji označí a bílkoviny je dále specificky rozložena, aby byla dál využita. (Storchová, 1995)

Hypersensitive induced response protein 3

Proteiny tohoto typu se v rostlinách podílejí na senzitivních odpovědích na napadení patogeny. Studie ukázala, že jejich množství v buňce koreluje s množstvím buněčných úmrtí. (Liang, a další, 2010)

Oleosin

Oleosiny jsou strukturní proteiny a podílejí se na tvorbě zásob olejů v rostlinách. (Jaradat, 2016)

3.2 Výsledky analýzy jednotlivých vzorků

3.2.1 Rosické těstoviny

Výrobce na obalu uvádí, že těstoviny jsou bezvaječné. Vzhledem k tomu, že neuvádí možnost (tab. 7), že by ve výrobku mohlo být stopové množství vajec nebo jiných alergenů, dá se předpokládat, že špagety byly vyrobeny v závodě, kde nedochází k zpracování těchto surovin.

Tabulka 7: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Rosické těstoviny

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Rosické těstoviny	Pšeničná mouka	Pouze proteiny z pšenice

Nalezené proteiny byly podle očekávání pšeničného původu (tab. 8). Největší zastoupení měl enzym rRNA N-glykosidasa, která se účastní katalytických procesů, dále zásobní protein glutenin a jeho podjednotky. Třetím nejzastoupenějším proteinem byl necharakterizovaný protein, který je v zrně stavební jednotkou pletiv. Dalšími nalezenými proteiny byly zásobní globuliny, proteiny ze skupiny kupinů a další nespecifikované proteiny. Z enzymů byly ve vzorku dále nalezeny fosfoglycerát kinasa, nukleosid difosfát kinasa a malát dehydrogenasa,

všechny s katalytickou funkcí. Dále inhibitor serinu protein skupiny SERPIN¹⁰ a histon, který je součástí DNA vazeb.

Všechny nalezené proteiny jsou pšeničného původu a všechny tyto proteiny jsou v zrně přítomné. Polovina nalezených proteinů měla zásobní funkci.

Tabulka 8: Rosické těstoviny - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	Původ
A0A3B6LV31	rRNA N-glykosidasa	9	<i>Triticum aestivum</i>
P08488	glutenin – podjednotka 12	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KPY9	rRNA N-glykosidasa	8	<i>Triticum aestivum</i>
P10387	glutenin – podjednotka DY10	7	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y5E3	necharakterizovaný protein	7	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D4	globulin	6	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D9	globulin	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6MWJ	necharakterizovaný protein - SERPIN	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NNE0	fosfoglycerát kinasa	6	<i>Triticum aestivum</i>
I6QQ39	globulin – 3A	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6A0K5	necharakterizovaný protein	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IJ76	necharakterizovaný protein – rodina kupinů	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y072	nukleosid difosfát kinasa	6	<i>Triticum aestivum</i>
A3KLL4	malát dehydrogenasa	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A1D6CGH8	histon	6	<i>Triticum aestivum</i>

¹⁰ (SERine Protein INhibitors) – proteiny podílející se na regulaci serinu, který tvoří aktivní místo některých enzymů, například trypsinu nebo chymotrypsinu.

3.2.2 Riscossa spaghetti

Výrobce na obalu tohoto produktu uvádí, že jsou špagety vyrobeny ze semoliny (tab. 9), očekávali jsme tedy proteiny pšeničného původu. Nepředpokládali jsme tedy obsah vaječných proteinů v tomto vzorku.

Tabulka 9: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Riscossa spaghetti

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Riscossa spaghetti	Semolina z tvrdé pšenice a voda	Proteiny z pšenice

Znatelně největší počet peptidů měly v tomto vzorku enzymy dehydrogenasy. Další, zastoupeny menším počtem peptidů, byly enzymy beta amylasa a frukto-bisfosfát aldolasa. Ze zásobních proteinů byly v tomto vzorku nalezeny globulin a necharakterizované proteiny ze skupiny kupinů. Zbýlymi nalezenými proteiny byly proteiny se strukturou coiled coil, které se podílejí na struktuře pletiv. Zajímavým proteinem je necharakterizovaný protein skupiny LEA (late embryogenesis abundant – protein související s pozdní embryogenezí rostliny), který se v zrně kumuluje během vysychání semen. Tento protein v jiném ze vzorků nebyl identifikován. (tab. 10)

Tabulka 10: Riscossa špagety - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
A0A3B6NQQ5	glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	12	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6RKE1	glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	11	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IYD4	beta-amylasa	8	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D9	globulin	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IJ76	necharakterizovaný – rodina kupinů	6	<i>Triticum aestivum</i>
I6QQ39	globulin – 3A	6	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y5E3	necharakterizovaný protein	5	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5XV32	necharakterizovaný protein – rodina kupinů	5	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6LT59	necharakterizovaný – LEA	4	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Z3G6	necharakterizovaný protein	4	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6LUV8	necharakterizovaný protein – rodina kupinů	4	<i>Triticum aestivum</i>
A0A1D5VD11	fruktosa-bisfosfát aldolasa	3	<i>Triticum aestivum</i>

3.2.3 Panzani 3 minutové

Následující tři vzorky značky Panzani mají totožné složení (tab. 11, 13 a 15). U všech jsme tedy očekávali pouze proteiny pšeničného původu. Uvedený rozdíl v době vaření je dán pouze tloušťkou těstovin. Výrobce deklaruje, že těstoviny mohou obsahovat stopy vajec.

Tabulka 11: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Panzani 3 minutové

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Panzani 3 minutové	100% krupice z tvrdozrnné pšenice, může obsahovat stopy vajec	Proteiny pšeničného původu

V těchto nejtenčích, s nejkratší dobou vaření, byl s největším počtem peptidů identifikován globulin (tab. 12). Počet globulinových peptidů je u tohoto vzorku dvojnásobný, než u předchozích vzorků špaget. Druhý nejzastoupenější protein je glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa. Podobné množství peptidů měli ve vzorku dva necharakterizované proteiny, o nichž víme jen to, že jejich funkce je zásobní. Pod deset peptidů měla beta-amylasa a tři další proteiny, jejichž funkci neznáme. Všechny nalezené proteiny jsou pšeničného původu – tedy odpovídají našemu očekávání založenému na uvedeném složení produktu.

Tabulka 12: Panzani 3minutové - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
I6QQ39	globulin-3A	12	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NQQ5	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	10	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6ILV9	necharakterizovaný protein	10	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IJ76	necharakterizovaný protein	10	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6RKE1	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IYD4	beta-amylasa	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6LT59	necharakterizovaný protein	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6MXI6	necharakterizovaný protein	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KSH4	beta-amylasa	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y5E3	necharakterizovaný protein	7	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D9	globulin 1	6	<i>Triticum aestivum</i>

3.2.4 Panzani 8 minutové

Výrobce ve složení uvádí pouze pšenici (tab. 13), očekávali jsme tedy identifikaci pouze pšeničných proteinů. Oproti předchozímu vzorku jsou špagety silnější, složení na obalu je však stejné.

Tabulka 13: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Panzani 8 minutové

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Panzani 8 minutové	100% krupice z tvrdozrnné pšenice, může obsahovat stopy vajec	Proteiny pšeničného původu

Se 17 peptidy byl v tomto vzorku nalezen enzym glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa, se 14 peptidy globulin a se 12 beta-amylasa. Stejný počet peptidů byl detekován u necharakterizovaného proteinu s neznámou funkcí a dále u dvou necharakterizovaných proteinů se zásobní funkcí. S méně než 10 peptidy byl ve vzorku zastoupen protein vázající ATP, rRNA N-glykosidasa a další zásobní nespecifický protein (tab. 14). Celkově je proteinové složení velmi podobné předchozímu vzorku. Vzhledem k tomu, že se jedná o stejného výrobce a výrobek se stejným složením, je to očekávatelný výsledek.

Tabulka 14: Panzani 8minutové - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	Původ
A0A3B6NQQ5	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	17	<i>Triticum aestivum</i>
I6QQ39	globulin-3A	14	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KSH4	beta-amylasa	12	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6RKE1	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	12	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y5E3	necharakterizovaný protein	12	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IYD4	beta-amylasa	11	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IJ76	necharakterizovaný protein	11	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6ILV9	necharakterizovaný protein	10	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NJT9	necharakterizovaný protein	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6LV31	rRNA N-glykosidasa	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KNF4	necharakterizovaný protein	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KPY9	rRNA N-glykosidasa	7	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y3L5	necharakterizovaný protein	7	<i>Triticum aestivum</i>

3.2.5 Panzani 11 minutové

11 minutová varianta špaget od značky Panzani se ve složení nijak neliší od dvou předchozích vzorků (tab. 15), i zde jsme očekávali nález proteinů pšeničného původu.

Tabulka 15: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Panzani 11 minutové

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Panzani 11 minutové	100% krupice z tvrdozrnné pšenice, může obsahovat stopy vajec	Proteiny pšeničného původu

Poslední z trojice vzorků značky Panzani se složením od předchozích příliš nelišil (tab. 16). Přes 10 peptidů bylo nalezeno u globulinu, beta-amylasy, glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasy a necharakterizovaných zásobních proteinů. Nad 10 peptidů měl ještě necharakterizovaný protein bez určené funkce a dál se opakoval globulin, glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa a necharakterizované proteiny tentokrát podílející se na vazbách v ATP. Dále zde byla nalezena rRNA N-glykosidasa a histon. V tomto vzorku byl navíc identifikován enzym škrobová syntasa, který je součástí biosyntézy škrobu a v jiném vzorku se neobjevil.

Tabulka 16: Panzani 11minutové - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
I6QQ39	globulin-3A	17	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IJ76	necharakterizovaný protein	16	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IYD4	beta-amylasa	14	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KSH4	beta-amylasa	14	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6ILV9	necharakterizovaný protein	14	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NQQ5	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	12	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Z3G6	necharakterizovaný protein	12	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D9	globulin 1	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6RKE1	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NJT9	necharakterizovaný protein	9	<i>Triticum aestivum</i>
Q9S7N5	škrobová syntasa	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6LV31	rRNA N-glykosidasa	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5XV32	necharakterizovaný protein	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6B3H4	histon H4	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y3L5	necharakterizovaný protein	8	<i>Triticum aestivum</i>

3.2.6 Albert špagety

Další ze vzorku špaget, u kterých výrobce uvádí možnost stopového obsahu vejce a má, tak jako předchozí vzorky, na obalu uvedeno, že se jedná o těstoviny vyrobené z mouky z tvrdé pšenice (tab. 17). I u tohoto vzorku jsme očekávali především proteiny rostlinného původu.

Tabulka 17: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Albert špagety

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Albert špagety	semolina – mouka z pšenice tvrdé, může obsahovat stopy vajec	Proteiny pšeničného původu

Ačkoliv se jedná různé značky, proteinové složení u tohoto vzorku následuje trend proteinového složení, který sledujeme u vzorků s uvedeným stopovým množstvím vajec. Nejzastoupenější je v tomto vzorku globulin následovaný glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasami. Další v pořadí jsou zásobní proteiny, které nebyly přesně charakterizovány, jeden protein o neznámé funkci a beta-amylasa. Pod deset peptidů měly ve vzorku necharakterizovaný protein vázající ATP a opět globulin a beta-amylasa. (tab. 18) Proteinové složení vzorku tedy odpovídá výrobcem uvedenému složení produktu a všechny proteiny jsou pšeničného původu.

Tabulka 18: Albert špagety - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
I6QQ39	globulin-3A	17	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6RKE1	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	13	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NQQ5	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	12	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6ILV9	necharakterizovaný protein	11	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5Y5E3	necharakterizovaný protein	10	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5XV32	necharakterizovaný protein	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IYD4	beta-amylasa	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NJT9	necharakterizovaný protein	9	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KNF4	necharakterizovaný protein	9	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D9	globulin 1	8	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KSH4	beta-amylasa	8	<i>Triticum aestivum</i>

3.2.7 Špagety (vzorek bez uvedené značky)

U tohoto vzorku výrobce uvádí jako surovinu pšeničnou mouku (tab. 19) – očekávali jsme tedy pšeničné proteiny.

Tabulka 19: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Špagety (výrobek bez značky)

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Špagety	Pšeničná mouka, může obsahovat stopy vajec	Proteiny pšeničného původu

U tohoto vzorku bylo identifikováno překvapivě málo peptidů. Průkazný počet (tedy alespoň dva) peptidů byl identifikován jen v případě glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasy a necharakterizovaného proteinu, jehož funkcí je inhibice serinu. Pouze jeden peptid byl nalezen u beta-amylasy, glykosidasy, gama gliadinu, oleosinu, histonu, glukosa-1-fosfát adenyltransferasy a necharakterizovaných proteinů (tab. 20).

Jako jediný obsahoval tento vzorek neprůkazné množství proteinů houbového původu. Jedná se o vřecovýtrusnou houbu *Giberella zae*, jejíž přítomnost je nežádoucí, nicméně závažné toxické účinky na lidské tělo nemá. Závažnější je její hospodářský význam, jelikož napadené rostliny mají deformované klasy a houba tím zásadně snižuje úrodu. (Cumagun, Bowden, Jurgenson, Leslie, & Miedaner, 2004)

Tabulka 20: Špagety (bez uvedené značky) - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
A0A3B6NQQ5	glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	2	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5YQP1	necharakterizovaný protein inhibitor serinu	2	<i>Triticum aestivum</i>
W4ZP51	necharakterizovaný protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IYD4	beta-amylasa	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A1D5ZL98	rRNA N-glykosidasa	1	<i>Triticum aestivum</i>
M9TGF7	gama gliadin-D2	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6LLH7	oleosin	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6MQG8	necharakterizovaný protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A080YUW8	histon H2A	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A1D6BV11	glukosa-1-fosfát adenyltransferasa	1	<i>Triticum aestivum</i>
I1RBA6	podjednotka protonové pumpy	1	<i>Gibberella zeae</i>
I1RYD3	necharakterizovaný protein	1	<i>Gibberella zeae</i>
I1S258	necharakterizovaný membránový protein	1	<i>Gibberella zeae</i>

3.2.8 Premium špagety

První ze vzorku vaječných špaget má ve složení uvedeno pouze 1 % (m/m) vajec (tab. 21), proto jsme očekávali, že identifikovaných proteinů nebude mnoho, respektive, že nalezených peptidů vaječného původu nebude mnoho.

Tabulka 21: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Premium špagety

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Premium špagety	Pšeničná mouka, sušená vejce (1 %)	Proteiny vaječného i pšeničného původu

V tomto vzorku nebyl nalezen žádný z proteinů v zastoupení větším než jen jedním peptidem (tab. 22). Z vybraných nalezených pšeničných proteinů byly nalezeny zásobní gliadiny a jeden necharakterizovaný protein, jehož funkce je také zásobní. Tak jako u většiny ostatních vzorků byla i zde nalezena glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa podílející se na

metabolismu glukosy. Dalšími nalezenými proteiny pšeničného původu je histon a necharakterizovaný protein, který je součástí reakční odpovědi na poranění rostliny.

Z proteinů vaječného původu nalezených v tomto vzorku nebyl ani jeden z nich charakterizován v databázi UniProt. Funkcemi těchto proteinů jsou peroxiredoxinová aktivita, jeden z proteinů je součástí metabolismu malátu, konkrétně je fumarát hydratase u dalších dvou není jejich funkce jasná.

Tabulka 22: Premium špagety - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
A0A3B5YQP1	necharakterizovaný protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6NQQ5	glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	1	<i>Triticum aestivum</i>
P06659	gama-gliadin B	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A080YUW8	histon H2A	1	<i>Triticum aestivum</i>
M9TGF7	gama-gliadin-D2	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B5XT99	necharakterizovaný protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
F2Z4M5	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>
F1NG43	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>
R4GFT3	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>
Q5ZLD1	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>

3.2.9 TESCO Špagety čtyř vaječné

Na obalu tohoto výrobku je uvedeno, že 18 % jeho hmotnosti tvoří vejce (tab. 23). Očekávali jsme tedy pšeničné proteiny a průkazné množství peptidů vaječného původu.

Tabulka 23: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku TESCO špagety 4 vaječné

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
TESCO Špagety 4 vaječné	Pšeničná mouka, vejce (18 %, m/m)	Proteiny vaječného i pšeničného původu

Počty peptidů jednotlivých proteinů byly v tomto vzorku nízké – jen 1 nebo 2 peptidy (tab. 24). První dva proteiny z tabulky jsou součástí reakčních odpovědí na poranění rostliny.

Z pšeničných proteinů byl dále ve vzorku nalezen zásobní gliadin a necharakterizovaný enzym podílející se na vazbě ATP.

Z vaječných proteinů byl identifikován jen vitellogenin, který je ve vaječném žloutku součástí transportu lipidů. Další dva proteiny vaječného původu nebyly charakterizovány.

Výrobce uvádí, že ve výrobku je 18% obsah vajec. Očekávala bych větší peptidové zastoupení vaječných proteinů a především bych čekala, že budou analyzovány nějaké konkrétní, ne jen necharakterizované proteiny spadající pod domény jen na základě jejich prostorové struktury (ubiquitin).

Tabulka 24: TESCO špagety čtyřvaječné – výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
A0A3B5YQY0	necharakterizovaný protein	2	<i>Triticum aestivum</i>
A0A1D5U586	necharakterizovaný protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
P06659	gama-gliadin B	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6CBF7	necharakterizovaný protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
F1NFL6	vitellogenin 2	1	<i>Gallus gallus</i>
F1P3W8	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>
E1BZ00	necharakterizovaný protein – ubiquitin (UBA)	1	<i>Gallus gallus</i>

3.2.10 Špagety vaječné Česká chuť

V tomto vzorku jsme podle složení (tab. 25) očekávali kromě pšeničných proteinů i proteiny vaječného žloutku.

Tabulka 25: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Špagety vaječné Česká chuť

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Špagety vaječné Česká chuť	Pšeničná mouka, pitná voda, sušený vaječný žloutek pasterovaný 2 %	Proteiny pšeničného původu a proteiny vaječného žloutku

Z pšeničných proteinů byl v tomto vzorku nalezen v největším peptidovém zastoupení enzym glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa, který je součástí metabolismu glukosy. Dalšími proteiny pšeničného původu byl zásobní gliadin, za tvrdost zrn zodpovědný Grain softness protein a protein, který se podílí na citlivosti rostliny vůči vnějším vlivům.

Z vaječných proteinů byly nalezeny v dostatečném zastoupení pouze dva necharakterizované proteiny, z čehož se jeden podílí na stavbě membrán a u druhého není dosud zřejmá jeho funkce (tab. 26). Tyto výsledky jsou z mého pohledu naprosto nedostatečné. Pokud výrobce uvádí, že výrobek obsahuje 2 % (*m/m*) vaječného žloutku, očekávala bych, že alespoň nějaký z nalezených proteinů bude prokazatelně součástí vaječného žloutku, jako je například vitellogenin.

Tabulka 26: Špagety Česká chut' - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
A0A3B6NQQ5	glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	2	<i>Triticum aestivum</i>
M9TGF7	gama-gliadin - B	1	<i>Triticum aestivum</i>
Q5BHT9	GSP-1 Grain Softness Protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KH00	hypersenzitivní protein 3	1	<i>Triticum aestivum</i>
F1N9S4	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>
E1C8M3	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>

3.2.11 TESCO Tagliatelle vaječné těstoviny nesušené

Podle výrobce (tab. 27) obsahuje tento výrobek kromě pšenice i vejce, takže jsem očekávala, že u tohoto vzorku budou identifikovány jak proteiny pšeničného, tak i vaječného původu.

Tabulka 27: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku TESCO Tagliatelle vaječné těstoviny

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
TESCO Tagliatelle vaječné těstoviny nesusšené	Krupice z pšenice tvrdé, pšeničná mouka, vejce (15 %, m/m)	Proteiny pšenice tvrdé i seté (<i>Triticum durum</i> i <i>aestivum</i>), vaječné proteiny

Všechny rostlinné proteiny v tomto vzorku byly identifikovány jako zásobní (tab. 28). Jedná se o gliadiny, gluteniny a jeden nespecifikovaný protein, jehož funkce je ovšem taky zásobní. Navíc byl ve vzorku identifikován keratin – protein považovaný za kontaminant vzhledem k tomu, že se jedná o protein z kožních buněk. To je mezi ostatními vzorky ojedinělé. Vzhledem k tomu, že výsledky byly porovnávány proti databázím pšeničných a vaječných proteinů (a také s databází běžných kontaminantů), můžeme hádat, že keratin bude přítomen kvůli znečištění buď v průběhu výroby, nebo během přípravy vzorku pro analýzu a keratin tedy bude lidského původu. Podle výrobce by měly být špagety složeny jak z mouky z pšenice seté (*Triticum aestivum*), tak i z pšenice tvrdé (*Triticum durum*). Ze získaných výsledků ale tento rozdíl nebyl potvrzen.

Z proteinů vaječného původu byl v dostatečném peptidovém zastoupení identifikován pouze necharakterizovaný protein F1P350 (nedohledaný v databázi UniProt).

Tabulka 28: TESCO Tagliatelle vaječné těstoviny - výsledky analýzy

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	původ
P06659	gama-gliadin B	2	<i>Triticum aestivum</i>
contP35527	keratin	1	
P02861	glutenin	1	<i>Triticum aestivum</i>
M9TGF7	gama-gliadin D2	1	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6KNF4	necharakterizovaný protein	1	<i>Triticum aestivum</i>
contP35527	keratin	1	
F1P350	necharakterizovaný protein	1	<i>Gallus gallus</i>

3.2.12 Vaječné Zátkovy Těstoviny Špagety

U tohoto vzorku je na obalu deklarován 2% obsah vajec (tab. 29). Očekávali jsme, že ve vzorku budou identifikovány vaječné i pšeničné proteiny.

Tabulka 29: Surovinové složení a očekávané proteiny ve výrobku Vaječné Zátkovy těstoviny

Název	Informace o složení	Očekávané proteiny
Vaječné Zátkovy Těstoviny Špagety	Pšeničná mouka, vejce (2 %, <i>m/m</i>)	Proteiny pšeničného i vaječného původu

V tomto vzorku byly všechny nalezené proteiny zastoupeny větším počtem peptidů než v ostatních vzorcích (tab. 30). Obsah pšeničných proteinů kopíruje trend předchozích vzorků, kdy největší peptidové zastoupení má glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa následována zásobními proteiny – v tomto případě globuliny a v menší míře gluteniny. Dalšími prokázanými proteiny pšeničného původu jsou enzymy beta amylasa a rRNA N-glykosidasa.

Tento vzorek jako jediný naplnil očekávání a bylo v něm nalezeno uspokojivé množství proteinů vaječného původu. S nejvyšším peptidovým zastoupením byl identifikován ovoalbumin, který je součástí vaječného bílku, dále vitellogenin-2 a apolipoprotein B, které jsou oba součástí vaječného žloutku, kde se podílejí na transportu lipidů, dále byl ve vzorku nalezen histon, který je součástí DNA a apovitellenin-1, který se ve vaječném žloutku účastní metabolismu lipidů.

Tabulka 30: VZY Výsledky

Kód proteinu	Název proteinu	Počet peptidů	Původ
A0A3B6NQQ5	glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	7	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D9	globulin 1	5	<i>Triticum aestivum</i>
Q0Q5D4	globulin 1	5	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6RKE1	glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenasa	5	<i>Triticum aestivum</i>
A0A3B6IYD4	beta amylasa	3	<i>Triticum aestivum</i>
P08488	glutenin	3	<i>Triticum aestivum</i>
A0A1D5ZL98	rRNA N-glykosidasa	2	<i>Triticum aestivum</i>
F1P350	necharakterizovaný protein	3	<i>Gallus gallus</i>
R9PXP5	ovoalbumin	3	<i>Gallus gallus</i>

F1NFL6	vittelogenin-2	3	<i>Gallus gallus</i>
F1NV02	apolipoprotein B	2	<i>Gallus gallus</i>
R4GJN7	histon H2A	2	<i>Gallus gallus</i>
P02659	apovitellenin	1	<i>Gallus gallus</i>

3.3 Shrnutí výsledků

Co se vaječných proteinů týče, výsledky splnily očekávání jen u jediného vzorku – u Zátkových vaječných těstovin. Pouze u těchto těstovin byly detekovány proteiny s dostatečným peptidovým zastoupením, tedy s více než dvěma peptidy, což je hranice, kdy se proteiny považují za jednoznačně identifikované. Identifikované proteiny byly charakteristické pro vejce (ovoalbumin, vitellogenin, apolipoprotein B). U vzorku čtyř vaječných těstovin byl sice nalezen vaječný protein vitellogenin, ale byl zastoupen pouze jediným peptidem. Vzhledem k tomu, že výrobce na obalu uvádí vejce jako surovinu, nepovažujeme přítomnost tohoto proteinu za náhodu, ale ani za důkaz přítomnosti vajec v uvedeném množství (tab. 31). Důvodů, proč se tyto proteiny našly prokazatelně jen v jediném vzorku, může být více. Prvním je chybně provedená příprava vzorků. Vzhledem k tomu, že všechny vzorky byly připravovány ve stejný den, jednou osobou, ve stejném prostředí, v rozsahu tří hodin, stejným postupem a pod dohledem vedoucí práce, je nepravděpodobné, že by byl správně připraven jen jediný vzorek. Ze stejného důvodu je i nepravděpodobné, že by se do vzorku Tesco čerstvých těstovin dostal nalezený keratin při přípravě vzorku. Jedná se o jediné těstoviny ze všech vzorků, které jsou nesušené – technologie jejich výroby tedy bude jiná než u ostatních těstovin. Dá se tedy předpokládat, že ke kontaminaci došlo již ve výrobě.

Tabulka 31: Shrnutí prokázaných vaječných proteinů

Název těstovin	Vejce ve složení	Vaječné proteiny (alespoň jeden peptid)
Čtyř vaječné	Ano	Ano
Česká chuť	Ano	Ne
Tesco čerstvé	Ano	Ne
Zátkovy	Ano	Ano

Dalším faktem je, že ze všech značek, jejichž produkty prošly analýzou, má značka Zátkovy nejdelsí historii a tradici, na které podle PR firmy, přísně lpí. Možnou variantou tedy je, že vzhledem k filosofii firmy se jedná o jediného výrobce, který výrobu nešidí a opravdu si dává na kvalitě svých produktů záležet.

Ke zvážení může být i samotná kvalita použitých chemikálií. Konkrétně trypsinu, který velmi snadno podléhá při pokojové teplotě rozkladu – proto se skladuje vmrazáku. Pokud by tedy došlo k nesprávné manipulaci, např. delší vystavení chemikálie pokojové teplotě, mohla být snížena jeho schopnost štěpit peptidové vazby. To by ovšem nevysvětlovalo, proč bylo nalezeno dostatečné množství peptidů u třech ze sedmi vzorků. Navíc s trypsinem bylo manipulováno pod dohledem vedoucí práce.

Studované vzorky mají v oblasti pšeničných proteinů několik společných znaků. Jedním z těch nejviditelnějších je významná přítomnost nebo naopak jasná absence glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasy. Vzhledem k tomu, že uvedený protein je ve vzorcích zastoupen buď vysokým počtem peptidů, nebo naopak ani jedním, mohli bychom z toho vyvodit, že se jedná o rozlišovací znak různých druhů použitých mouk. První myšlenka míří k rozlišení mouk z pšenice seté a pšenice tvrdé, ale podle tabulky 32 to tento případ není. Mou domněnku také vyvrací fakt, že tento enzym je součástí metabolismu glykolýzy, která se vyskytuje ve všech zrnech. Absence tohoto enzymu ve třech vzorcích tedy může být čistě náhodná.

Tabulka 32: Přehled přítomnosti glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasy

Výrobek	Mouka	Přítomnost glycerinaldehyd-3-fosfát dehydrogenasy
Rosické	Pšeničná	Ne
Riscossa	Z tvrdé pšenice	Ano
Panzani 3m	Z tvrdé pšenice	Ano
Panzani 8m	Z tvrdé pšenice	Ano
Panzani 11m	Z tvrdé pšenice	Ano
Špagety albert	Z tvrdé pšenice	Ano
Špagety	Pšeničná	Ano
Premium	Pšeničná	Ano
4 vaječné	Pšeničná	Ne
Česká chuť	Pšeničná	Ano
Tesco čerstvé	Pšeničná a z tvrdé pšenice	Ne
Zátkovy	Pšeničná	Ano

Dále se nabízí teorie, že je-li dehydrogenasa součástí metabolismu glukosy, pak její nepřítomnost znamená, že v zrnech, ze kterých byla mouka vyrobena, již její aktivní metabolismus neprobíhal, a proto tento enzym nebyl přítomen a nebo byl ale v tak malém množství, že byl pod detekčními možnostmi použité metody. Zrna na mouku, ve kterých dehydrogenasu nenacházíme, by tedy mohla být starší, než zrna na mouku, ve kterých ji můžeme nalézt. Bohužel vzhledem k tomu, že nevíme, jak byla zrna přesně technologicky zpracována, nemůžeme tuto teorii nijak potvrdit.

Co se dalšího proteinového složení týče, byly si vzorky v obsahu nevaječných proteinů víceméně podobné. Ve všech byly podle očekávání nalezeny zásobní proteiny, které tvoří většinu proteinů pšeničného zrna. U některých vzorků byly nalezeny proteiny, které se podílejí na reakční odpovědi na poranění rostliny – můžeme se domnívat, že zrna, ze kterých tyto proteiny pocházejí, byla sklizena nešetrně nebo u nich byl vyvolán stres sušením nebo tepelným zpracováním před, v průběhu nebo po sklizni.

Velmi zajímavý je objev proteinu houby ve vzorku Špaget (výrobek bez uvedené značky). Jedná se o organismus *Gibberella zeae*, který způsobuje částečné zasychání klasů obilnin a v současné době je rozšířen po celé Evropě. (Fassatiová, 1979)

4 Závěr

Cílem této práce bylo prokázat přítomnost vajec ve špagetách. Bylo vybráno celkem dvanáct vzorků běžně dostupných špaget – dva vzorky bezvaječných, pět vzorků špaget, u kterých výrobce uvádí, že mohou obsahovat stopy vajec a pět vaječných u kterých výrobci uvedli obsah vajec mezi 1 a 15 hmotnostními procenty.

Vzorky byly nadrceny, naváženy a naštěpeny enzymem trypsinem, který štěpí peptidové vazby a následně byly roztoky přečištěny třemi roztoky (aktivační, ekvilibrační a eluční). Pro účel práce byla vybrána analytická metoda LC-ESI-Q-TOF (Liquid Chromatography – Electrospray Ionisation – Quadrupole Time of Flight), která je velmi často používána k proteinovým rozborům jelikož je rychlá, spolehlivá a lze s ní analyzovat široké spektrum organických i analytických látek. Výsledné seznamy zjištěných peptidů byly porovnány s mezinárodními databázemi. Bezvaječné vzorky byly porovnávány s databází proteinů původem z pšenice (*Triticum aestivum*) a stopové a vaječné vzorky byly porovnávány proti proteinům z pšenice a proteinům pocházejícím z kura obecného (*Gallus gallus*).

Výsledky byly následně zpracovány do přehledných tabulek, ze kterých byl vyvozen původ surovin. V bezvaječných vzorcích byly nalezeny jen pšeničné proteiny, především se zásobní funkcí. Ve vzorcích těstovin s údajným možným výskytem stopového množství vajec nebylo nalezeno průkazné množství peptidů vaječného původu, předpokládáme tedy, že jsou tyto těstoviny vyráběny v závodech, kde se vejce zpracovávají a uvedením varování na obalu se výrobce jen brání případné náhodné kontaminaci. V jednom ze vzorků byly v neprůkazném množství (jedním peptidem) nalezeny proteiny pocházející z vřeckovýtrusné houby *Giberella zea*, která ač není pro člověka toxická, její obsah je v těstovinách nežádoucí. Ve vzorcích vaječných špaget byly proteiny vaječného původu nalezeny pouze u dvou vzorků, z toho u jednoho jen v neprůkazném množství. Toto si vysvětlujeme buď tak malým reálným obsahem vajec v produktu, že jeho identifikace je pod rozlišovací schopnost metody nebo mnohem prozaičtěji tím, že do těstovin je přidáván většinou jen pasterovaný vaječný žloutek, který oproti bílku obsahuje jen zlomek všech vaječných bílkovin. Dalším vysvětlením může být šizení produktu ze strany výrobce.

S přihlédnutím na výsledky analýzy považujeme výběr zvolené metody a analýzu celkově za úspěšnou.

5 Citovaná literatura

- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2004). *Food Chemistry*. Springer.
- Benda, V., Babůrek, I., & Žďárský, J. (2000). *Biologie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.
- Birghila, S., Bratu, M. M., Prajutira, C., Roncea, F., & Negreanu-Pirjol, T. (Březen 2015). Spectrophotometric Method for the Determination of Total Proteins in Egg White Samples. *Revista de Chimie -Bucharest*, stránky 378-381.
- Brulez, K., Miksik, I., Cooney, C., Hauber, M., Lovell, P., Maurer, G., . . . Cassey, P. (Březen 2016). Eggshell pigment composition covaries with phylogeny but not with life history or with nesting ecology traits of British passerines. *Ecology and Evolution*, stránky 1637-1645.
- Cumagun, C., Bowden, R., Jurgenson, J., Leslie, J., & Miedaner, T. (Květen 2004). Genetic Mapping of Pathogenicity and Aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) Toward Wheat. *Phytopathology*.
- De Giuseppe, R., Roggi, C., & Cena, H. (15. Leden 2014). n-3 LC-PUFA supplementation: Effects on infant and maternal outcomes. *European Journal of Nutrition*, stránky 1147-1154.
- Dunwell, J. (15 1998). Cupins: a new superfamily of functionally diverse proteins that include germins and plant storage proteins. *Biotechnology and Genetic Reviews*, stránky 1-32.
- Dunwell, J., Purvis, A., & Khuri, S. (6. 2004). Cupins: the most functionally diverse protein superfamily? *Phytochemistry*, stránky 7-17.
- Elmorjani, K., Geneix, N., Dalgalarondo, M., Branlard, G., & Marion, D. (Červenec 2013). Wheat grain softness protein (Gsp1) is a puroindoline-like protein that displays a specific post-translational maturation and does not interact with lipids. *Journal of Cereal Science*, stránky 117-122.
- Elwart, J. (10 1967). Amino acid analysis of glutenins and gliadins. *Journal of the Science and Agriculture*, stránky 111-117.
- Endo, Y., & Tsurugi, K. (25. Červen 1988). The RNA N-glycosidase activity of ricin A-chain. The characteristics of the enzymatic activity of ricin A-chain with ribosomes and with rRNA. *The Journal of Biological Chemistry*, stránky 8735-8739.
- Fassatiová, O. (1979). *Plísně a houby v technické mikrobiologii*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury.
- Fernandez, M. L. (Leden 2006). Dietary cholesterol provided by eggs and plasma lipoproteins in healthy populations. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, stránky 8-12.

- Fialová, L. (2012). *Ústav lékařské biochemie I. lf UK*. Načteno z http://chel.lf1.cuni.cz/html/Mastne_kyseliny_2sm.pdf
- Fordras S.A. *Nutraceutical Ingredients, Functional Food, Pharmaceutical API And Culture Media : Ovotransferrin*. (2017). Načteno z www.fordras.com: <https://web.archive.org/web/20170726150744/http://www.fordras.com/ovotransferrin/>
- Gettins, P. G. (8. Listopad 2002). Serpin Structure, Mechanism, and Function. *Chemical Reviews*, stránky 4751-4804.
- Graves, P. R., & Haystead, T. J. (1. Březen 2002). Molecular Biologist's Guide to Proteomics. *American Society for Mikrobiology*, stránky 39-63.
- Guo, J., Hobbs, D. A., Cockroft, J. R., Elwood, P. C., Pickering, J. E., Lovegrove, J. A., & Givens, D. I. (2. Listopad 2017). Association between egg consumption and cardiovascular disease events, diabetes and all-cause mortality. *European Journal of Nutrition*, stránky 2943-2952.
- Hefetz, A., & Grozinger, C. M. (14. Listopad 2016). Non-Mammalian Hormone-Behavior Systems. *Hormones, Brain and Behavior (Third Edition)*, stránky 453-464.
- Hiidenhovi, J. (2007). Ovomucin. *Bioactive Egg Compounds*, stránky 61-68.
- Historie společnosti*. (nedatováno). Načteno z [Zátkovy těstoviny a mouka](http://www.zatka.cz/): <http://www.zatka.cz/>
- History of Pasta*. (25. Září 2007). Načteno z International Pasta Organisation: <http://www.internationalpasta.org/index.aspx?id=6>
- Hong-Bo, S., Zong-Suo, L., & Ming-An, S. (10. Listopad 2005). LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, stránky 3-4.
- Hrabě, J., Březina, P., & Valášek, P. (2006). *Technologie výroby potravin živočišného původu*. Zlín: UTB.
- Chvostová, L. (2015). *Abeceda zahrady - zajímavosti*. Načteno z [Abeceda zahrady](https://abecedazahrady.dama.cz/clanek/jak-nalozit-vajicka-aby-vydrzela-cerstva-az-rok): <https://abecedazahrady.dama.cz/clanek/jak-nalozit-vajicka-aby-vydrzela-cerstva-az-rok>
- Jaradat, A. A. (2016). Breeding Oilseed Crops for Climate Change. *Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production*, stránky 421-472.
- Klouda, P. (1996). *Moderní analytické metody: učebnice základů instrumentálních analytických metod*. Ostrava: Pave Klouda.
- Kodíček, M. (2007). *Biochemické pojmy - výkladový slovník*. Načteno z [Biochemické pojmy](https://e-learning.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=trypsin): https://e-learning.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=trypsin
- Koplík, R. (nedatováno). *VŠCHT - Ústav analýzy potravin a výživy*. Načteno z Prof. Dr. Ing. Richard KOPLÍK - Ústav analýzy potravin a výživy: <https://web.vscht.cz/~koplir/B%C3%ADlkoviny%20a%20aminokyseliny.pdf>
- Kulíková, L. (2013). *Fakulta veterinárního lékařství*. Načteno z [Fakulta veterinárního lékařství](https://fvl.vfu.cz/files/welfare_drxbexe_-_kulikova2013m.pdf): https://fvl.vfu.cz/files/welfare_drxbexe_-_kulikova2013m.pdf

- Liang, Z., Ming-Yan, C., Man-Wah, L., Yaping, F., Zongxiu, S., Sai-Ming, S., & Hon-Ming, L. (30. Prosinec 2010). Rice Hypersensitive Induced Reaction Protein 1 (OsHIR1) associates with plasma membrane and triggers hypersensitive cell death. *BMC Plant Biology*, str. 290.
- Longsworth, L., Cannan, K., & MacInnes, D. (1940). An Electrophoretic Study of the Proteins of Egg White. *Journal of the American Chemical Society*, 2580-2590.
- Manchenko, G. (1994). *Handbook of Detection of Enzymes on Electrophoretic Gels*. CRC Press.
- Mann, K. (1. Říjen 2007). The chicken egg white proteome. *Animal Proteomics*, stránky 3558-3568.
- Manners, D. (1963). Enzymic Synthesis and Degradation of Starch and Glycogen. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, stránky 371-430.
- Míková, K. (2010). *Naše vejce: O vejci - Vejce jako potravina*. Načteno z Naše vejce: <http://www.nasevejce.cz/o-vejci/vejce-jako-potravina>
- Míková, K. (2012). Zpracování vajec. V P. Kadlec, K. Melzoch, & M. Voldřich, *Přehled tradičních potravinářských výrob* (stránky 197-213). Ostrava: KEY Publishing s.r.o.
- Milde, D. (2010). *Katedra analytické chemie UP v Olomouci - intranet*. Načteno z Katedra analytické chemie UP v Olomouci: <http://ach.upol.cz/user-files/intranet/10-im-ms-1352292974.pdf>
- Minárik, P., Tomášková, N., Kollárová, M., & Antalík, M. (13. Červen 2002). Malate Dehydrogenases – Structure and Function. *General Physiology and Biophysics*, stránky 257-265.
- Morris, C. (Březen-Duben 2002). Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Molecular Biology*, stránky 633-647.
- Morris, C., Geng, H., Beecher, B., & Ma, D. (1. Srpen 2013). A review of the occurrence of Grain softness protein-1 genes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Molecular Biology*, stránky 507-521.
- Morton, N. (17. Duben 2013). *Poultry*. Načteno z The Poultry site: <https://thepoultrysite.com/articles/global-poultry-trends-static-egg-consumption-in-europe>
- Müllerová, M., & Skalický, J. (1985). *Zpracování mouky II*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury.
- Němcová, I., Engst, P., & Jelínek, I. (1998). *Spektrometrické analytické metody II*. Praha: Karolinum.
- Nicolas, A., Dalalande, O., Hubert, J., & Le Rumeur, E. (19. Březen 2014). The spectrin family of proteins: a unique coiled-coil fold for various molecular surface properties. *Journal of Structural Biology*, stránky 392-401.
- Nicholls, D., & Ferguson, S. (2013). Chemiosmotic Energy Transduction. *Bioenergetics*, stránky 3-12.

- Nováček, F. (2017). *Fytochemické základy botaniky*. Olomouc: Fontána.
- Oniszczyk, A. (6. Únor 2016). LC-ESI-MS/MS Analysis and Extraction Method of Phenolic Acids from Gluten-Free Precooked Buckwheat Pasta. *Food Analytical Methods*, stránky 3063-3068.
- Osborne, T. B. (1907). *The Proteins of the Wheat Kernel*. Washington: Carbegie Institution of Washington.
- Our Story: Buitoni*. (2018). Načteno z Buitoni: <https://www.buitoni.com/our-story>
- Panzani - příběh těstovin*. (2019). Načteno z Panzani: <http://www.panzani.cz/pribeh-testovin>
- Poustka, J. (2016). *VŠCHT- Fakulta potravinářské a biochemické technologie*. Načteno z Ústav analýzy potravin a výživy: <https://web.vscht.cz/~poustkaj/APKP%20P2%20JP2016%20VEJCE.pdf?fbclid=IwAR0vYfn6BP5baydgh1xFhEuE5EhT9IST8xrh3bwqyh9bdd4ZLCHyOthXqU8>
- Příhoda, J., Skřivan, P., & Hrušková, M. (2003). Technologie výroby těstovin. V J. Příhoda, P. Skřivan, & M. Hrušková, *Cereální chemie a technologie I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.
- Rédei, G. P. (2008). *Encyclopedia of Genetics, Genomics, Proteomics, and Informatics*. Springer.
- Reeve, J., Bailey, K., Li, W.-t., Marc, F., Sandman, K., & Soares, D. (1. Duben 2004). Archeal histones: structures, stability and DNA binding. *Biochemical Society Transactions*, stránky 227-230.
- Rubert, J., Zachariasova, M., & Hajslova, J. (25. Květen 2015). Advances in high-resolution mass spectrometry based on metabolomics studies for food – a review. *Journal Food Additives & Contaminants: Part A*, stránky 1685-1708.
- Serventi, S., & Sabban, F. (2002). *Pasta: The Story of a Universal Food*. New York: Columbia University Press.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., Belton, P. S., & Tatham, A. S. (2002). The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, stránky 133-142.
- Shewry, P. R., Tatham, A. S., Forde, J., Kreis, M., & Mifflin, B. J. (Duben 1986). The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment. *Journal of Cereal Science*, stránky 97-106.
- Shuren, J. (16. Leden 2007). *Department of Health and human services - Food and drug administration*. Načteno z Department of Health and human services: <https://web.archive.org/web/20070126011901/https://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/05n-0279-npr0001.pdf>
- Silbernagl, S., & Despopoulos, A. (2016). *Atlas fyziologie člověka*. Praha: GRADA Publishing.
- Slavíková, Z. (2002). *Morfologie rostlin*. Praha: Karolinum.
- Steingarten, J. (1998). *The Man Who Ate Everything*. New York: Vintage Books.

- Storchová, Z. (5. Říjen 1995). Ubiquitin - Jak se buňka zbavuje nepotřebných nebo poškozených bílkovin. *Vesmír*.
- Sturkie, P. (1999). *Avian Physiology*. London: Academia press.
- Tarze, A., Deniaud, A., Le Bras, M., Maillier, E., Molle, D., Larochette, N., . . . Brenner, C. (19. Duben 2007). GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization. *Oncogene*, stránky 2606-2620.
- Tolosa, J., Graziani, G., Gaspari, A., Chianese, D., Ferrer, E., Mañes, J., & Ritieni, A. (9. Únor 2017). Multi-Mycotoxin Analysis in Durum Wheat Pasta by Liquid Chromatography Coupled to Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometry. *Toxins*, str. 59.
- Veselovský, Z. (2001). *Obecná ornitologie*. Praha: Academia.
- Voet, D., Voet, J., & Pratt, C. (2013). *Fundamentals of biochemistry : life at the molecular level*. Hoboken, New Jersey: Wiley.
- Vřešťál, J. (2000). *Hmotnostní spektrometrie*. Brno: Masarykova univerzita.
- Vydavatelství VŠCHT - Knihy. (2014). Načteno z Centrum informačních služeb VŠCHT Praha: https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/hesla/aldolasy.html
- Walek, P., & Tóth, J. (2015). *Co vám výživová poradci neříkají? (Protože to nevědí)*. Praha: Fitness Innovations s.r.o.
- Wang, Z., Meng, G., Bai, Y., Liu, R., Du, Y., & Su, L. (12. Září 2017). Comparative transcriptome analysis provides clues to molecular mechanisms underlying blue-green eggshell color in the Jinding duck (*Anas platyrhynchos*). *GMC Genomics*, str. 18.
- Wilhelm, Z. (Únor 2013). Masné kyseliny ω -3; od teorie po klinickou praxi. *Medicina pro praxi*, stránky 72-76.
- Zvoraň, J. (11. Září 2008). The oldest czech pasat plant relies on traditional taste of its customers. (J. Richter, Tazatel)

6 Seznam použitých zkratek

ACN	Acetonitril
DNA	Deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
GC/FID	Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (gas chromatography with flame ionisation detector)
HDL	Lipoproteiny s vysokou hustotou (High Density Lipoproteins)
HPLC-ESI-MS/MS	Hmotnostní spektrometrie s vysokovýkonnou kapalinovou chromatografií s elektrosprejovým ionizátorem (High-Performance Liquid Chromatography and Electropray Ionisation Mass Spectrometry).
IDL	Lipoproteiny se střední hustotou (Intermediate Density Lipoproteins)
LC-ESI-Q-TOF	Kapalinová chromatografie s elektrosprejovým ionizátorem a čtyřpólovým detektorem a detektorem doby letu (Liquid Chromatography – Electropray Ionisation – Quadrupole Time of Flight),
LDL	Lipoproteiny s nízkou hustotou (Low Density Lipoproteins)
LEA	Proteiny pozdní embryogeneze (Late Embryogenesis Abundant)
MK	Mastná Kyselina
NADH/NAD ⁺	Nikotinamidadenindinukleotid - oxidovaná a redukováná forma (Nicotinamide adenine dinucleotide)
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny (Poly Unsaturated Fatty Acids)
RNA	Ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
SERPIN	Inhibitory seriové proteasy (Serine protease inhibitors)
TFA	Kyselina tetrafluoroctová (Trifluoroacetic acid)
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie (Ultraviolet-visible spectroscopy)
VLDL	Lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (Very Low Density Lipoproteins)