

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta zemědělská a technologická
Katedra potravinářských technologií a kvality
zemědělských produktů

Autoreferát disertační práce

Ing. Bc. Radka Vrzalová

České Budějovice

2024

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta zemědělská a technologická
Katedra potravinářských technologií a kvality
zemědělských produktů

Autoreferát disertační práce

Vypracovala: Ing Radka Vrzalová

Studijní program: Zootechnika

Studijní obor: Zoohygiena a prevence chorob
hospodářských zvířat

Název práce: Bezpečnostní rizika celozrnných
bezlepkových potravin se zaměřením na výskyt
tropanových alkaloidů

Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Smetana, Ph.D

Abstrakt

V posledních 10 letech se dostaly do hledáčku evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) tropanové alkaloidy, nebezpečné přírodní toxiny, pocházející z plevelů doprovázejících nečištěné nebo špatně dočištěné frakce zemědělských plodin. Tropanové alkaloidy jsou toxické sekundární metabolity přirozeně se vyskytující v přibližně jedné pětině vyšších rostlin. Nejvýznamnějšími zdroji rostlinných alkaloidů potencionálně přenositelnými do potravin jsou plevelné rostliny rostoucí na polích, které mohou při sklizni kontaminovat cílové zemědělské komodity.

Z uvedených případových studií a provedených rešerších zdrojů vyplývá, že nadlimitní výskyty alkaloidů je velkým problémem zejména v bezlepkových plodinách, surovinách a potravinách. Z těchto speciálních potravin, využívaných zejména celiaky, se pak stávají vysoce rizikové komodity.

V rámci výzkumné práce byla věnována pozornost legislativě, týkající se bezpečnosti potravin, zejména obsahu kontaminujících látek tropanových alkaloidů a bezpečnost bezlepkových výrobků jako takových.

Výzkumné šetření – analýza hladin atropinu a skopolaminu metodou HPLC u 41 bezlepkových potravin na českém trhu obsahujících zájmové plodiny (čirok, jáhly, kukuřici, pohanku) vedlo k posouzení bezpečnosti – zdravotní nezávadnost bezlepkových potravin vhodných pro všechny, kteří vyhledávají tento stravovací trend včetně celiaků, kteří jsou na tyto výrobky ve své stravě odkázáni.

Ve zkoumaných sortimentních skupinách bezlepkových potravin nebyly zjištěny vysoce nadlimitní hodnoty tropanových alkaloidů, pouze u dvou vzorků došlo k mírnému překročení limitu pro skupinu výrobků z čiroku, kukuřice a jáhel. Během šetření a sběru dat však vyvstaly další výzkumné otázky, směřující k problematice zvýšené konzumace těchto výrobků právě u skupiny celiaků, zejména malých dětí, kterým v dobré víře rodiče poskytují právě celozrnné bezlepkové potraviny v rámci denního jídelníčku.

Klíčová slova: atropin, bezlepková dieta, bezpečnost potravin, celiakie, kontaminace, tropanové alkaloidy, scopolamin

Abstract

Safety risks of whole grain gluten-free foods with a focus on the occurrence of tropane alkaloids.

In the last 10 years, tropane alkaloids, dangerous natural toxins from weeds accompanying untreated or poorly treated fractions of agricultural crops, have come under the spotlight of the European Food Safety Authority (EFSA). Tropane alkaloids are toxic secondary metabolites naturally occurring in about one fifth of higher plants. The most significant sources of plant alkaloids possibly transferable to food are weedy plants growing in fields, which can contaminate target agricultural commodities at harvest.

As mentioned case studies and source searches demonstrated, excessive alkaloid occurrence is a major concern, especially in gluten-free crops, raw materials and foods. These specialty foods, used often by coeliacs, then become high-risky commodities.

In the research work, attention has been paid to legislation concerning food safety, especially the contaminating presence of tropane alkaloids and the safety of gluten-free products as such.

The research investigation – analysis of atropine and scopolamine levels by HPLC method in 41 gluten-free foods on the Czech market containing the crops of interest (sorghum, buckwheat, corn, millet) led to the assessment of acceptability – health safety of gluten-free foods suitable for all those who seek this dietary trend, including coeliacs who depend on these products in their diet.

In the range of gluten-free foods examined, no highly excessive levels of tropane alkaloids were found, with only two samples slightly exceeding the limit for the group of sorghum, maize and millet products. However, during the investigation and data collection, further research goals arose regarding the issue of increased consumption of these products in the coeliac group, especially in case of young children who are fed with whole grain gluten-free foods as part of their daily diet in good faith by their parents.

Keywords: atropine, glutenfree diet, food safety, coeliac disease, contamination, tropane alkaloids, scopolamine

Obsah

Úvod.....	6
1 Literární rešerše	7
1.1 Evropská legislativa	7
1.1.1 Bezpečnost x nebezpečnost potravin	7
1.1.2 Bezpečnosti bezlepkových výrobků.....	7
1.1.3 Bezpečnost potravin – tropanové alkaloidy	9
1.2 Celiakie	12
1.2.1 Výskyt celiakie, současný stav.....	13
1.3 Bezlepkové potraviny	14
1.3.1 Povolené potraviny	14
1.4 Alkaloidy charakteristika a účinky	15
1.4.1 Tropanové alkaloidy.....	16
2 Cíle a hypotézy	18
2.1 Cíle dizertační práce.....	18
2.2 Hypotézy	18
3 Materiál a metodiky	20
3.1 Materiál	20
3.2 Metodika	21
3.2.1 Extrakce a analýza vzorků	21
4 Výsledky a diskuze	23
4.1 Výsledky	23
4.1.1 Výsledné hodnoty TA všech analyzovaných vzorků.....	24
4.2 Diskuze	27
4.2.1 Diskuze sortiment snídaněvé kaše	27
5 Závěr	31
Seznam použité literatury.....	33

Úvod

Bezlepková dieta se stává v posledních několika letech jedním z módních trendů ve stravování jako takovém. Tato původně léčebná zdravotní dieta je v současné době propagována známými sportovci a jinými tzv. VIP osobnostmi jako redukční či očistná kúra vedoucí ke zdravějšímu životnímu stylu, k vyšším výkonům ve sportu nebo redukci hmotnosti. Tím, že se bezlepková dieta dostala do širšího povědomí se i výrobci potravin zaměřili na produkci výrobků denní spotřeby – pečiva, snídaňových kaší, ale i příkrmů pro batolata, ze „zdravých“ surovin, které byly v posledních letech při výrobě potravin využívány spíše alternativně – pohanka, proso, trpasličí proso (teff), čirok, zrno kukuřice, lněné semeno, semena šalvěje hispánské – chia, laskavce – amarantu, quinoi apod. V ČR produkce těchto původně okrajově pěstovaných plodin v posledních letech stoupá, stejně tak jako dovoz ze států EU nebo tzv. třetích zemí. Výrazným zdrojem těchto plodin je v ČR, ale i EU v posledních 10 letech převážně BIO produkce ve formě celozrnných – neloupaných semen, která sebou bohužel stejně tak jako nekontrolovaný dovoz nese úskalí ve formě nežádoucích příměsí a kontaminací.

V posledních 10 letech se tak dostaly do hledáčku evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) mimo jiné i tropanové alkaloidy, nebezpečné přírodní toxiny pocházející z plevelů doprovázejících nečištěné nebo špatně dočištěné frakce výše uvedených alternativních plodin. Bylo zjištěno, že při hodnocení dietární expozice může docházet u některých skupin populace (zejména u kojenců, batolat a dětí) k překročení bezpečné hladiny atropinu a skopolaminu. Z pohledu výše jmenované evropské instituce se však jedná o možné překročení u zdravé populace, nikoliv u populace celiaků – pacientů či alergiků na obiloviny, kteří pravidelně konzumují výše uvedené plodiny či výrobky z nich.

Cílem této dizertační práce je posoudit zdravotní nezávadnost bezlepkových potravin vhodných pro všechny, kteří vyhledávají tento stravovací trend včetně celiaků – pacientů s bezlepkovou dietou odkázaných na celoživotní konzumaci bezlepkových výrobků. Vzhledem k rozsáhlosti a aktuálnosti výše uvedeného tématu, týkajícího se sledování neustálého zvyšování obsahu tropanových alkaloidů (atropin a scopolamin) v potravinách, uváděných na trh v rámci EU nebyly dále zkoumány plísňe a další cizorodé zdravotně škodlivé látky, jak bylo původně zamýšleno.

1 Literární rešerše

1.1 Evropská legislativa

1.1.1 Bezpečnost x nebezpečnost potravin

Nebezpečí a riziko jsou základními pojmy v rámci hodnocení bezpečnosti potravin a jsou laickou veřejností ne vždy zcela správně chápány. Jde o různé, i když vzájemně propojené pojmy, avšak v běžné řeči jsou tato dvě slova často používána jako synonyma. To vede ke zmatku v jejich pravém významu, ať už u široké veřejnosti či odbornějších zainteresovaných stran. Následkem toho se pak vnímaná rizika nemusí vždy shodovat se skutečnými riziky, což dělá komunikaci o riziku v oblasti bezpečnosti potravin o to náročnější.

Pro účely bezpečnosti potravin jsou uvedené pojmy jasně definovány v nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin, čl. 3, bod 9. (rizikem se rozumí míra pravděpodobnosti nepříznivého účinku na zdraví a závažnosti tohoto účinku, vyplývající z existence určitého nebezpečí) a bod 14. – nebezpečím se rozumí biologické, chemické nebo fyzikální činitele v potravinách nebo krmivech nebo stav potravin nebo krmiv, které mohou mít nepříznivý účinek na zdraví (Anonym 1, 2023).

1.1.2 Bezpečnosti bezlepkových výrobků

Důležitým aspektem bezpečné výroby bezlepkových výrobků jsou hygienické limity a hranice max. obsahu lepku dané evropskou potravinovou legislativou. Evropská komise pro bezpečnost potravin věnovala v posledních 20 letech kvalitě a bezpečnosti bezlepkových potravin poměrně velký prostor.

Codexový standard for Foods Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten je směrnice vymezující mezinárodní standard pro výrobce potravin, která určuje nejvyšší možné množství určitých složek v potravinách. Už v roce 1962 zřídily Světová zdravotnická organizace (WHO) a Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) při OSN komisi pro vytvoření Codex Alimentarius; standard byl posléze přijat v roce 2008. V kodexu uvedená pravidla převzala 1. ledna 2012 Nařízení (ES) č. 41/2009 ze dne 20. ledna 2009 o složení a označování potravin vhodných pro osoby

s nesnášenlivostí lepku, které stanovuje jednotná evropská pravidla na složení a označování potravin z hlediska obsahu lepku (Bass, 2013).

Od 15. 12. 2014 vstoupilo v platnost Nařízení EU 1169 z roku 2011, O poskytování informací o potravinách spotřebitelům, jsou výrobci povinni uvádět alergeny (tedy i obiloviny obsahující lepek) přímo ve složení výrobků na etiketách, a to jiným typem písma, tedy tučně, velkými písmeny nebo podtržené, např. **pšeničná** mouka, **ječný** slad, **žitný** kvas atd. V souladu s článkem 36 odst. 3 písm. d) nařízení č. 1169/2011 vydala Evropská Komise prováděcí nařízení Komise č. 828/2014 upravující poskytování informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách spotřebitelům. Toto nařízení je použitelné od 20. července 2016 a zrušuje tím původní nařízení č.41/2009. Prováděcí nařízení Komise č. 828/2014 stanoví harmonizovaná pravidla pro informace poskytované spotřebitelům o nepřítomnosti lepku (tvrzení „bez lepku“) nebo o sníženém obsahu lepku (tvrzení „velmi nízký obsah lepku“) v potravinách. Pravidla uvedeného nařízení jsou podložena vědeckými údaji a zaručují, aby spotřebitelé nebyli uváděni v omyl nebo mateni na základě informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách, poskytnutých různými způsoby. Tvrzení „bez lepku“ lze použít pouze tehdy, neobsahuje-li potravina ve stavu, v němž je prodávána konečnému spotřebiteli, více než 20 mg/kg lepku (Anonym 2, 2016).

V evropském prostoru neexistuje povinnost obsah lepku v potravinách běžně uvádět. Potřebná kritéria (množství gliadinu) musí splnit pouze výrobce deklarující svůj výrobek jako bezlepkový, a to od 20.7.2016 v souladu s prováděcím nařízením Komise 828/2014. Mnohé výrobky však nejsou z tohoto pohledu jednoznačné, neboť některé, na první pohled bezlepkové výrobky, mohou stopy lepku obsahovat (balení luštěnin – čočka, rýže apod.). Jiné výrobky lepek neobsahují, a přesto výrobce preventivně vyznačí přítomnost lepku ve stopách na obalu výrobku. Pokud tedy spotřebitel s tímto onemocněním konzumuje jen výrobky bezpečně označené či deklarované jako bezlepkové, je obvykle vystaven riziku velmi jednostranného a málo pestrého stravování. Často je ochuzen o další možnosti rozšíření sortimentu jen proto, že výrobce se k obsahu lepku nijak nevyjadřuje nebo ho nepravdivě a preventivně uvádí např. již ve výše uvedených „stopách“ (Starnovská, 2016).

Stále více výrobců bezlepkových potravin projevuje zájem o jednoduché značení svých produktů, které by zákazníkům usnadnilo výběr. Ve světě se prosazuje jednotně používaný symbol přeškrtnutého klasu. V ČR si ho zaregistrovalo jako

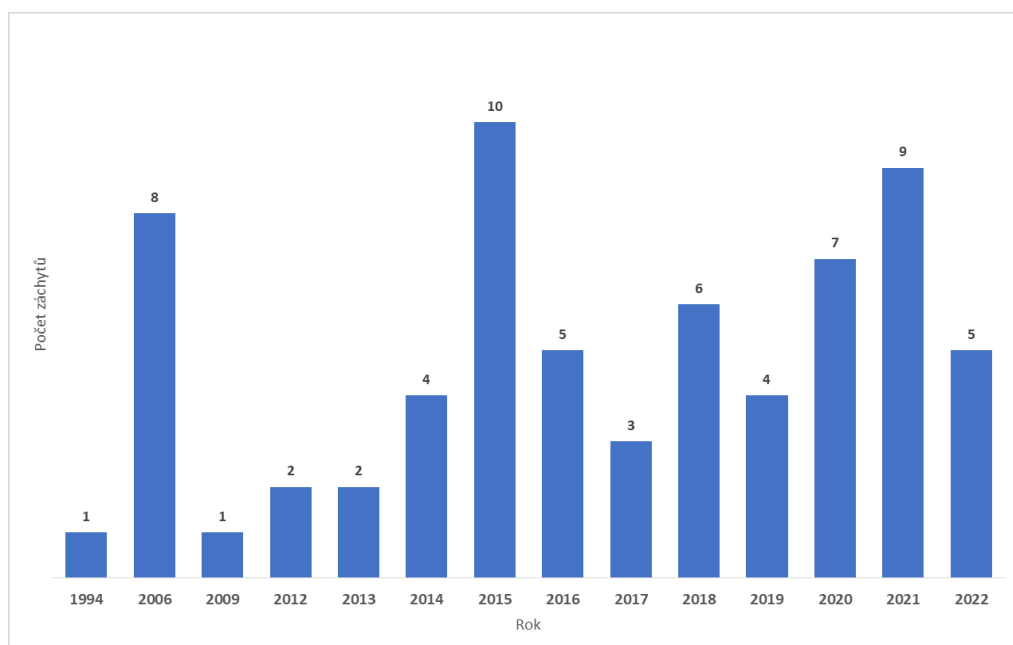
ochrannou známku (s písmeny CZ) Sdružení celiaků ČR. Asociace evropských společností celiaků (AOESC) se sídlem v Bruselu přišla s nápadem zpoplatnit užívání loga.

Cíl vytvořit jednotný a přehledný systém značení však naráží na neochotu výrobců platit licenční poplatky, který je podmíněn provedením řady laboratorních testů na obsah lepku (Bass, 2013).

1.1.3 Bezpečnost potravin – tropanové alkaloidy

Bezpečnost potravin pro všechny skupiny konzumentů se stala základním principem evropské potravinové politiky, který by měl zaručit ochranu zdraví spotřebitelů v celém EU prostoru. Bezpečnost potravin zahrnuje hygienu výroby potravin, kontrolní mechanismy, monitoring potravních řetězců a bezpečnost krmiv a má logický přesah i co do výživy populace. Spektrum nebezpečných látek kontaminujících bezlepkové potraviny, tedy ty, které jsou sledovány u obilnin, potažmo obilnin bez lepku a z nich vyráběných mlýnských výrobků, cereálií, pečiva i cukrovinek, je velmi široké.

Obrázek 1 Trend záchytů nadlimitních tropanových alkaloidů v potravinách v EU rok 1994 – 2006 – 2022 (Lugasi, 2023)



V posledních 6 letech se evropská komise pro bezpečnost potravin EFSA zaměřila na sledování obsahu nežádoucích příměsí plevelů, které jsou nositeli nebezpečných

látek – tropanových alkaloidů. EFSA prosazuje zavést do potravinářské výroby standardní sledování tropanových alkaloidů, a to zejména u obilných příkrmů a ostatních příkrmů určených pro kojence a malé děti, zejména obsahujících proso, čirok, pohanku, kukuřici a produkty z nich odvozené (náhodné záchyty obrázků 1). Zrna prosa a pohanky a mlýnské výrobky z nich a mlýnské výrobky z kukuřice a čiroku, včetně popcornu. Zrna kukuřice a čiroku vyjma nezpracované kukuřice pro účely zpracování „mokrým“ mletím (Anonym 3, 2013). Jedná se tedy i o potraviny, které jsou přirozeně bezlepkové a jsou součástí mnoha potravin určených pro pacienty s celiakií držící bezlepkovou dietu (Vrzalová, 2022).

Dle Nařízení komise (EU) 742/2010 o změně nařízení (EU) 1272/2009, přílohy I. mohou u kukuřice a čiroku tvořit nečistoty max. 3 % hmotnosti. Z toho cizí semena zahrnují semena, která nelze zužitkovat, semena, která lze použít jako krmivo, ale která nejsou obilovinami, a škodlivá semena. Škodlivá semena smějí tvořit max. 0,10 % ze všech určených nečistot. Škodlivými semeny se rozumí semena, která jsou jedovatá pro lidi a zvířata, a semena, která brání nebo komplikují čištění a mletí obilovin, a semena, která mění jakost produktů z obilovin (Anonym 4, 2010).

Do vymezené skupiny příměsí a nečistot pro obiloviny, luštěniny a olejninu patří mimo jiné semena a plody rostlin, které obsahují jedovaté nebo zdraví škodlivé látky (alkaloidy, glykosidy apod.) a obsah škodlivých nečistot je nejvýše 0,1% hmotnosti (Anonym 5, 2000).

Kontrola tropanových a pyrrolizidinových alkaloidů v potravinách se v posledních letech stala v Evropě jednou z hlavních priorit v oblasti bezpečnosti potravin kvůli exponenciálnímu nárůstu potravinových varování souvisejících se znepokojivými hladinami těchto přírodních toxinů v potravinách (Casado *et al.*, 2024).

V roce 2016 provedla EFSA rozsáhlou studii o výskytu tropanových alkaloidů v potravinách z různých geografických oblastí po celé Evropě. Vzorky byly odebrány v období od června 2015 do srpna 2016, a to v devíti zemích (Česká republika, Francie, Německo, Maďarsko, Itálie, Nizozemsko, Polsko, Španělsko a Velká Británie). Jednalo se o vzorky mouky (pohanka, proso), cereální potraviny pro děti, snídaňové cereálie, sušenky, chléb, bylinné čaje, těstoviny a luštěniny. Jeden a více tropanových alkaloidů bylo identifikováno ve 21,3 % vzorků mouk, ve 20 % vzorků potravin pro malé děti ve věku 6 – 36 měsíců, v 6,8 % vzorků snídaňových cereálií, v 14,6 % vzorků sušenek a pečiva, v 15,8 % vzorcích chleba, v žádném vzorku těstovin,

v 70,2 % vzorcích sušiny bylinných čajů a ve 26,2 % všech vzorků luštěnin (Mulder *et al.*, 2016).

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) byl požádán, aby vydal vědecké stanovisko k rizikům pro zdraví lidí a zvířat v souvislosti s přítomností tropanových alkaloidů (TA) v potravinách a krmivech. Komise EFSA pro kontaminující látky v potravinovém řetězci (dále jen "komise CONTAM") proto mohla provést posouzení rizik pouze u (-)-hyoscyaminu a (-)-skopolaminu, pro něž byly k dispozici údaje o výskytu a toxicitě. Vzhledem k tomu, že farmakologické účinky (-)-hyoscyaminu a (-)-skopolaminu se projeví během krátké doby po podání, dospěla komise CONTAM k závěru, že je vhodné stanovit akutní referenční dávku (ARfD) pro tyto látky. Na základě výsledků snížené srdeční frekvence ve studii na lidských dobrovolnících stanovil panel CONTAM skupinovou ARfD 0,016 µg/kg tělesné hmotnosti (ž.hm.) vyjádřenou jako součet (-)-hyoscyaminu a (-)-skopolaminu za předpokladu ekvivalentní účinnosti. Spolehlivý odhad expozice byl možný pouze pro jednu potravinu a jednu věkovou třídu (batolata). Na základě omezených informací dospěla komise CONTAM k závěru, že dietární expozice batolat by mohla být až sedmkrát vyšší než u skupiny ARfD a mohla by překročit skupinovou ARfD přibližně v 11 až 18 % dnů konzumace (Anonym 3, 2013).

Vzhledem k hodnocení dietární expozice (EFSA) může docházet u některých skupin populace (zejména u kojenců, batolat a dětí) k překročení bezpečné hladiny atropinu a skopolaminu. Vysoké nálezy těchto dvou tropanových alkaloidů byly zjištěny v čajích a bylinných nálevech, cereálních tyčinkách a koření a v některých kukuřičných výrobcích (Anonym 6, 2019).

ARfD je odhad množství látky v potravinách nebo pitné vodě (vztaženo na tělesnou hmotnost), které lze konzumovat po dobu 24 hodin nebo kratší bez zřetelných zdravotních rizik pro spotřebitele založených na známých skutečnostech v okamžiku posuzování". ARfD je vyjadřována v miligramech nebo v mikrogramech chemické látky na kilogram tělesné hmotnosti (mg/kg, resp. µg/kg) (Anonym 3, 2013).

Po několikaletém zkoumání vlivu tropanových alkaloidů na lidské zdraví a kontaminaci potravin TA vydal evropský úřad pro bezpečnost potravin Nařízení komise (EU) 2021/1408 ze dne 27.srpna 2021 (tabulka 1), kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity tropanových alkaloidů v některých potravinách.

Tabulka 1 Nařízení komise (EU) 2021/1408 – změny v oddílu 8 přílohy nařízení (ES) č.1881/2006, navržené maximální limity pro tropanové alkaloidy (Anonym 7, 2021)

Potraviny (*)		Maximální limit (µg/kg)	
8.2	Tropanové alkaloidy		
		Atropin	Skopolamin
8.2.1	Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti obsahující proso, čirok, pohanku, kukuřici nebo produkty z nich odvozené	1,0	1,0
		Suma atropinu a skopolaminu	
8.2.2	Nezpracované proso a čirok	5,0 od 1. září 2022	
8.2.3	Nezpracovaná kukuřice s výjimkou — nezpracované kukuřice určené ke zpracování mokrým mletím a — nezpracované kukuřice na pražení	15 od 1. září 2022	
8.2.4	Nezpracovaná pohanka	10 od 1. září 2022	
8.2.5	Kukuřice na pražení Proso, čirok a kukuřice uváděné na trh pro konečného spotřebitele Výrobky z mletého prosa, čiroku a kukuřice	5,0 od 1. září 2022	
8.2.6	Pohanka uváděná na trh pro konečného spotřebitele Výrobky z mleté pohanky	10 od 1. září 2022	
8.2.7	Bylinné čaje (sušený výrobek) s výjimkou bylinných čajů uvedených v bodě 8.2.8	25 od 1. září 2022	
8.2.8	Bylinné čaje (sušený výrobek) ze semen anýzu	50 od 1. září 2022	
8.2.9	Bylinné čaje (v tekuté formě)	0,20 od 1. září 2022	

1.2 Celiakie

Celiakie je trvalá intolerance (nesnášenlivost) lepku glutenu, resp. jeho frakce alfa-gliadinu, který je součástí bílkovin obilnin (pšenice, žito a ječmene, ovsa a jejich kříženců). Jedná se o autoimunitní onemocnění, kdy přítomnost lepku u citlivého organismu nastartuje tvorbu protilátek proti erytrocytům – buňkám sliznice tenkého střeva. Ty jsou těmito protilátkami ničeny, dochází proto k poškození celistvosti

sliznice tenkého střeva ve smyslu bariérové ochrany a imunologického dozoru (Kohout *et al.*, 2010).

Celiakie je podmíněna působením toxické frakce glutenu na enterocyty (buňky sliznice tenkého střeva, které vede u disponovaných osob k jejich poškození až zániku. U zdravých lidí je sliznice tenkého střeva vystlána vlasovými klky, jejichž úkolem je vstřebávání živin do těla. U pacientů postižených celiakií vyvolává lepek autoimunitní reakci a způsobuje tak poškození a atrofii klků. Při delším působení dojde k masivnímu oploštění klků a přestávají se efektivně vstřebávat jakékoliv živiny z potravy. Tento stav se označuje jako rozvinutá celiakie (Dupin, 2014; Chvátalová *et al.*, 2012; Meijer *et al.*, 2018).

Patogenetickou podstatou celiakie je obranná reakce slizničního imunitního systému tenkého střeva na toxické a imunogenní glutenové peptidy. Imunitní reakce je doprovázena porušením střevní bariéry a zvýšenou propustností tenkého střeva pro antigeny přítomné v jeho lumen. Ačkoliv autoimunitní zánět vzniká v tenkém střevě, patofyziologické důsledky nejsou omezeny pouze na poškození struktury a funkce tenkého střeva. Mimostřevní projevy nemoci jsou nejen projevem malabsorpce, ale též výsledkem zvýšené střevní propustnosti a cirkulace imunitních buněk i autoprotilátek krevní cestou (Hoffmanová, 2019a; Sapone *et al.*, 2012).

Onemocnění se projevuje rozdílně u dětí a u dospělých. U dětí se projevuje celkovým neprospíváním, poruchou růstu, podvýživou, u dospělých se může projevit úbytkem hmotnosti (Frič a Mengerová, 2008).

1.2.1 Výskyt celiakie, současný stav

Celiakie je celosvětově rozšířené onemocnění. Epidemiologické studie ukazují, že v posledních desetiletích narůstá její incidence i prevalence. Podle metanalýzy z roku 2018 se globální prevalence celiakie pohybuje kolem 1,4 % (Singh *et al.* 2018).

Onemocnění celiakie je někdy nazýváno "nemocí moderní doby" a stále více přibývá pacientů, hlavně dětí, které jsou nuceny dodržovat bezlepkovou dietu od velmi raného dětství až do konce života.

Lékaři se dlouho domnívali, že v případě celiakie jde o dosti vzácné onemocnění, postihující jen jednu osobu asi z 2000 – 4000 lidí. Rostoucí úroveň vědomostí o různých podobách obtíží nemoci samé, nové vyšetřovací metody, a především velký počet provedených vyšetření vedly ke zjištění, že četnost výskytu celiakie je desetkrát vyšší. Ze získaných čísel bylo jasné, že celiakie není nijak vzácná,

naopak postihuje hodně lidí, i když ti si obvykle nejsou vědomi příčin svých obtíží (Bass, 2013; Peňa, 1991).

Incidence a prevalence se jistě zvyšují díky zlepšení diagnostiky a výšení povědomí o variabilních klinických projevech celiakie, ale i v rámci faktického nárůstu autoimunitních onemocnění (Hoffmanová, Sánchez 2015).

1.3 Bezlepkové potraviny

Je třeba si uvědomit, jaké množství je pro celiaky a alergiky na lepek bezpečné a jaká množství již vedou k trvalému poškození střeva a dále celého organismu. Stravovací režim – bezlepková dieta je prozatím jediným funkčním „lékem“ na celiakii (Anonym 11, 2024).

Doživotní bezlepková dieta znamená absolutní a bezvýhradné vyloučení surovin, potravin a nápojů obsahujících lepek. Doporučená denní dávka lepku, která nesmí být překročena a kolísá dle lékařských zdrojů mezi 10 – 50 mg. Vzhledem k tomu, že jsou pozorovány stavy poškození střeva již kolem 10 mg, je žádoucí v max. možné míře se potravinám s lepkem vyhnout. Celoživotní úplné vyloučení lepku ze stravy vede k úplnému uzdravení střeva (až na nepatrné procento pacientů). Porušování diety může vést k těžkému poškození organismu, k nádorům zažívacího traktu, nádorům lymfatické tkáně, ale i jiných orgánů (Anonym 12, 2013).

1.3.1 Povolené potraviny

Obiloviny obsahující lepek jsou v bezlepkové dietě nahrazeny obilovinami jako je rýže, kukuřice, pohanka, proso a jáhly (loupané proso), čirok, teff neboli milička habešská, bér, slzovka, či pseudoobilninami (pohanka, amarant neboli laskavec, merlík čilský neboli quinoa). Povoleny jsou jakékoliv přirozené bezlepkové potraviny (Naik *et al.*, 2018; Příbylová, 2012).

Nejčastější strategií ke zlepšení nutriční kvality bezlepkové mouky, chleba a pekařských výrobků je přidávání výživově cenné mouky z bezlepkových pseudoobilnin (amarant, quinoa, pohanka), z bezlepkových obilovin (čirok, teff, proso) z kořenů hlíz (brambory, batáty či jam, taro, maniak, známý též jako cassava, yuca, anebo tapioka), z luštěnin (sója, fazole, čočka, hrách, cizrna) ze zemních mandlí, z lusků karobu (svatojánského chleba) či přidáním dalších alternativních proteinů – kasein a jiné mléčné proteiny, vaječné proteiny (Matos and Rosell, 2015).

Dalším zlepšením je používání zápar a měkčených zrn jak z bezlepkových obilovin, luštěnin, tak i olejnatých semen. Dále se při přípravě bezlepkového těsta využívá klíčení (např. klíčení hnědé rýže) nebo fermentační procesy založené na mléčném kvašení -přidáním směsi laktobacilů, za vzniku kyseliny mléčné a octové v poměru 3 – 4:1 (El Khoury *et al.*, 2018; Matos and Rosell, 2015).

Výborným zdrojem vitamínů skupiny B1, B2, B3 and B6 je právě mouka z merlíku, teffu, prosa, jedlých kaštanů, pohanky a amarantu (Rybicka and Gliszczyńska-Swigło, 2017).

Vývoj nových chutných a zdravých potravinářských výrobků připravených z bezlepkových plodin se stává atraktivním trendem pro potravinářský průmysl vzhledem k potenciálním funkčním vlastnostem některých GF (gluten free) obilovin a mouk (bohatých na vitamíny, minerály, antioxidanty, vlákninu atd.) (Patil and Arya 2017; Rocchetti *et al.*, 2019).

Například mouka amarantová, pohanková, cizrnová, kukuřičná, proso a quinoa byly hodnoceny při výrobě GF chleba jako kvalitní náhražky pšeničné mouky (Burešová, *et al.* 2017; Giménez-Bastida and Zieliński, 2015).

V posledních letech se také znatelně zvýšil zájem o teff, což z něj činí vhodný a alternativní produkt pro přípravu GF potravin nutričně vylepšených. Vzhledem k absenci lepku v zrna a velmi atraktivnímu nutričnímu profilu proto některé GF obiloviny, pseudoobiloviny a luštěniny zažívají obnovený komerční zájem, což zdůrazňuje potřebu pečlivé kontroly výskytu tropanových alkaloidů (TA) v tomto druhu vzorků (González-Gómez *et al.*, 2020).

1.4 Alkaloidy charakteristika a účinky

Přírodní alkaloidy jsou toxické sekundární metabolity přirozeně se vyskytující v přibližně jedné pětině vyšších rostlin. Nejvýznamnějšími zdroji rostlinných alkaloidů potencionálně přenositelnými do potravin jsou plevelné druhy rostoucí na polích, které mohou při sklizni kontaminovat cílové zemědělské komodity (Hajšlová *et al.*, 2018).

Za hlavní zdroj alkaloidů se považují hlavně dvouděložné rostliny. Obecně platí, že alkaloidy s jednodušší strukturou jsou v přírodě více rozšířeny než alkaloidy se složitou strukturou (Spilková, Martin a Siatka, 2023). Dusíkové atomy (jeden či více) vyskytující se v molekule alkaloid jsou obvykle zabudovány do

heterocyklického kruhu. V dnešní době je známo více než 10 000 sloučenin různých struktur alkaloidů (Aniszewski 2015; Hrdina 2004).

V rostlině se obvykle objevuje minimálně jeden dominantně zastoupený alkaloid doprovázen minoritními, které mají stejnou základní strukturu, ale liší se například v pozici hydroxylových a methylových skupin, počtem a polohou dvojných vazeb nebo různými substituenty (Spilková, Martin a Siatka, 2023).

1.4.1 Tropanové alkaloidy

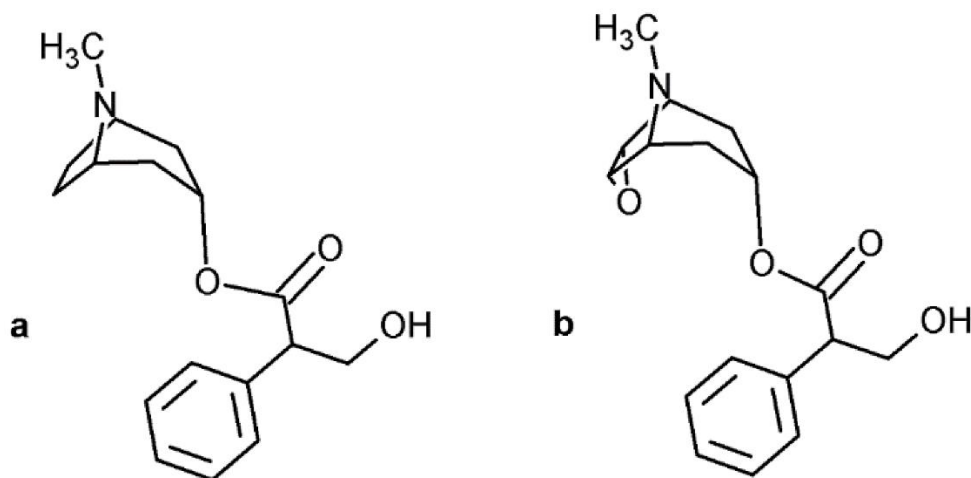
Tropanové alkaloidy jsou přírodní toxiny, produkované plevelnými rostlinami například z čeledi lilkovité (*Solanaceae*), jako je durman obecný (*Datura stramonium*), či z čeledi svlačcovité (*Convolvulaceae*), jako je svlačec rolní (*Convolvulus arvensis*) (Kocourek, 2024).

Tropanové alkaloidy jsou antimuskarinové sloučeniny, které blokují muskarinové receptory hladkých svalů v průduškách, žláz a nervových zakončení, inhibují svalovou kontrakci a sekreci a také zvyšují uvolňování neurotransmiterů. Tropanové alkaloidy jsou parasymptické neuromuskulární paralyzéry, které ovlivňují srdeční a dechovou frekvenci, působí jako spasmolytika hladkého svalstva a také snižují sekreci slin, žaludeční šťávy a bílkovin. V dávkách 3,0 až 8,0 mg vzrušují centrální nervový systém, ale nad 10 mg paralyzují jeho funkci. Sloučeniny se vyznačují rychlou a úplnou absorpcí přes sliznici (Brown, 1990).

K otravě tropanovými alkaloidy může dojít při jednorázové expozici, s inkubační dobou až 6 hodin. Cesta expozice je nejčastěji orální, ale vyskytla se i otrava cestou inhalační. Tropanové alkaloidy se pak rychle vstřebávají prostřednictvím gastrointestinálního traktu (Beermann *et al.*, 1971).

Mezi nejznámější zástupce tropanových alkaloidů patří (-)-skopolamin (známý pod názvem skopolamin a (-)-hyoscyamin (známý pod názvem atropin). Atropin je však ve skutečnosti racemická směs (-)-hyoscyaminu a (+)-hyoscyaminu, přičemž pouze (-)-enantiomer hyoscyaminu vykazuje anticholinergické účinky. Při syntéze tropanových alkaloidů v rostlinách vznikají pouze (-)-enantiomery, tj. (-)-hyoscyamin a (-)-skopolamin, znázorněny na obrázku 4.

Obrázek 2 strukturálního vzorce a) atropin (hyoscyamin), b) scopolamin (Koželj, Prosen 2021):



Tropanové alkaloidy byly nalezeny v mnoha potravinářských produktech, a to v bylinných čajích, konzervovaných fazolkách, pohankové mouce, prosu nebo medu, dále v sušenkách, chlebu, kaších nebo těstovinách díky kontaminované vstupní surovině – pohance. Řada toxikóz tropanovými alkaloidy pochází z obilných zrn, olejnin a kukuřice, které jsou kontaminovaným jedovatým plevem (Anonym 3, 2013).

Přítomnost tropanových alkaloidů u rodu *Datura* je dobře známa. *Datura stramonium* je rostlina široce rozšířená v oblastech mírného a tropického pásu, a z toho důvodu byla semena *Datura stramonium* zajištěna i jako nečistoty ve lněných semenech, sóji, čiroku, prosu, slunečnici a pohance a produktech z nich, tabulka 3. Semena *Datura stramonium* nelze z čiroku, prosa a pohanky snadno odstranit tříděním a čištěním, a proto bývá u čiroku, prosa a pohanky a produktů z nich odvozených a u obilných potravin, které je obsahují, zjištěna kontaminace tropanovými alkaloidy (Anonym 15, 2016).

2 Cíle a hypotézy

2.1 Cíle dizertační práce

Cílem této dizertační práce je posoudit zdravotní nezávadnost bezlepkových potravin vhodných pro všechny, kteří vyhledávají tento stravovací trend včetně celiaků – pacientů s bezlepkovou dietou, se zaměřením na obsah tropanových alkaloidů (atropin a scopolamin) u surovin vhodných pro domácí vaření a pečení, dostupných na českém trhu.

Pro splnění výše uvedeného cíle je nutné provést komplexní posouzení nabídky bezlepkových surovin pro domácí využití dostupných pro běžného konzumenta na českém (slovenském) trhu a porovnání s limity EU.

Za účelem dosažení tohoto hlavního cíle, je problematika rozdělena do tří tematických celků, které mají dát odpovědi na vytýčené výzkumné hypotézy.

2.2 Hypotézy

1. Bezlepkové suroviny pro domácí použití vaření a pečení, či rychlou přípravu snídaní obsahují nežádoucí látky tropanové alkaloidy (atropin, scopolamin) v nadlimitních množstvích (viz. limity Nařízení EU tabulka 1) a mohou být tedy pro jejich konzumenty nebezpečné.
2. Existují rozdílné obsahy tropanových alkaloidů v jednotlivých sortimentních skupinách (jednodruhové mouky, moučné směsi chlebové, směsi na jemné pečivo, snídaňové kaše).
3. Bezlepkové suroviny pro domácí použití skupiny BIO produkce obsahují vyšší nadlimitní množství trop. alkaloidů než produkty z konvenčního zemědělství a prvovýroby.

Každá z výše uvedených hypotéz byla vytýčena tak, aby umožnila nalézt odpovědi na otázky, které jsou klíčové pro úspěšné dosažení cíle dizertační práce.

Hypotéza č. 1 byla stanovena na základě velkého množství případů intoxikace tropanovými alkaloidy při použití bezlepkových surovin k domácí přípravě kaší, pečiva a dalších teplých pokrmů. (viz. kapitola 1.6. Výskyt TA v přirozeně bezlepkových potravinách napříč Evropou posledních 10 let).

Hypotéza č. 2 – byla stanovena na základě rozdělení hraničních limitů pro určité sortimentní skupiny (viz. Tabulka č. 1 – Nařízení komise (EU)

2021/1408 – změny v oddílu 8 přílohy nařízení (ES) č.1881/2006, navržené maximální limity pro tropanové alkaloidy).

Hypotéza č. 3 byla postavena na základě tvrzení v literatuře, že např. druhy *Datura* (durman) a *Fagopyrum* (pohanka) ve skutečnosti produkují a dozrávají téměř současně a produkují semena podobné velikosti a hmotnosti. To může být zvláště důležité pro ekologické zemědělství, protože méně přísné hospodaření s plevelem může umožnit zvýšenou přítomnost potenciálně nebezpečných rostlin na poli spolu s plodinami (Cirlini *et al.*, 2018).

3 Materiál a metodiky

Pro účely disertační práce byla vytipována řada vzorků reprezentujících jednotlivé skupiny bezlepkových surovin pro domácí použití, tak aby byla obsažena co nejširší škála a rozmanitost výrobků obsahujících sporné složky – pohanku, čirok, kukuřici, jáhly (proso), případně slunečnici, lněné semínko či sóju. Jedná se tedy o rostliny, u kterých lze předpokládat znečištění semena *Datura stramonium* či *Atropa belladonna* a může docházet ke kontaminaci tropanovými alkaloidy, na základě informací dostupných v literatuře (Anonym 3, 2013; Anonym 7, 2021).

Vzorky byly testovány na celkový obsah tropanových alkaloidů na pracovišti katedry Biotechnologií a kvality potravin Zemědělské fakulty JU metodou HPLC (*high-performance liquid chromatography*) vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií, která slouží k separaci složek vzorku za účelem stanovení jejich přítomnosti i koncentrace ve vzorku, popř. i k izolaci jednotlivých složek směsi. Ke stanovení obsahu tropanových alkaloidů byla tato metoda vybrána na základě informací dostupných v literatuře (Sawabe *et al.*, 2011; González-Gómez *et al.*, 2022).

3.1 Materiál

Pro vytipování vhodných bezlepkových surovin k analýze bylo třeba zmapovat na českém trhu jejich dostupnost pro zájmovou skupinu spotřebitelů a celiaky. Záměrně byly vybírány vzorky české provenience dostupné na českých internetových obchodech a v kamenných prodejnách, kde nejčastěji nakupují čeští spotřebitelé i ti, kteří musí dodržovat bezlepkovou dietu (celiaci).

Na českém trhu je nabízeno celkem 110 výrobků obsahujících semena pohanky, čiroku, kukuřice, prosa (jáhly) či lněného nebo slunečnicového semene nebo jejich směsi. Certifikaci – tedy označení přeškrtnutého klasu pro bezpečnou konzumaci při celiakii mělo 82 výrobků. Toto zjištění nijak neovlivnilo další postup výběru vzorků, vzhledem k tomu, že pokud by výše uvedené potraviny lepek obsahovaly a nebyly by vhodné pro bezlepkovou dietu, musí být alergenní složka – tedy lepek či obilniny lepek obsahující vypsány v souladu s Nařízením evropského parlamentu a rady 1169/2011, o poskytování informací o potravinách spotřebitelům.

Byly vybírány vzorky bezlepkových surovin pro domácí využití (vaření, pečení moučníků, chleba, drobného pečiva, tvorbu těstovin, pro rychlou přípravu

snídaní – kaše) obsahujících semena pohanky, čiroku, kukuřice, prosa (jáhly) či lněného nebo slunečnicového semene nebo jejich směsi.

Při výběru bylo dbáno na fakt, aby všechny vzorky splňovaly DMT (datum min. trvanlivosti) alespoň 6 měsíců od data nákupu.

Vzorky byly nakupovány i v podobné gramáži balení, tak jak byly dostupné na trhu.

Dalším ukazatelem pro výběr byla prezentace bezlepkového výrobku jako produktu BIO zemědělství, tak aby byly zastoupeny obě skupiny – konvenční a BIO produkce těchto surovin.

Poslední vybranou skupinu tvořilo celé zrna opět v deklarované BIO kvalitě, které bylo semleto na domácím kamenném mlýnku MockMill 100, příkon 360 W. Každý vzorek byl vždy přemlet 2 x, aby se dosáhlo stejné hrubosti jako u kupovaných jednodruhových mouk.

3.2 Metodika

Vzorky byly testovány na celkový obsah tropanových alkaloidů na pracovišti katedry Biotechnologií a kvality potravin Zemědělské fakulty JU metodou HPLC (*high-performance liquid chromatography*) vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií, která slouží k separaci složek vzorku za účelem stanovení jejich přítomnosti i koncentrace ve vzorku, popř. i k izolaci jednotlivých složek směsi. Ke stanovení obsahu tropanových alkaloidů byla tato metoda vybrána na základě informací dostupných v literatuře (Sawabe *et al.*, 2011;González-Gómez *et al.*, 2022).

3.2.1 Extrakce a analýza vzorků

K extrakci tropanových alkaloidů z kaší (extrudovaných krupic) a mouky bylo pečlivě zváženo vhodné množství vzorku (10 – 50 gramů). Následně byly vzorky (krupic a hrubších vzorků - pohanková mouka) jemně podrceny pomocí hmoždíře a paličky. Připravený prášek byl přenesen do kádinky, do které bylo přidáno 100 ml methanolu; zde bylo nutné promíchání, je nutné zajistit, aby rozpouštědlo zcela pokrylo materiál. Směs byla míchána 6 hodin při pokojové teplotě. Po extrakci byla směs filtrována pomocí filtračního papíru za účelem odstranění pevných částic. Filtrát byl následně odpařován pod sníženým tlakem pomocí rotační odparky (zde je třeba dbát na to, aby nedošlo k degradaci alkaloidů v důsledku nadměrného ohřevu). Extrakty byly skladovány ve tmě při 4 °C až do analýzy; před analýzou LC-MS byla provedena

odpovídající ředění. Analýza pomocí kapalné chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) byla provedena pomocí systému Agilent 6420 Triple Quad (Agilent USA), který zahrnoval kapalinový chromatograf LC-20AD, od vzdušňovač, automatický vzorkovač, detektor diodového pole, sloupcovou pec a hmotnostní spektrometr LCMS-2020 vybavený zdrojem elektrosprejové ionizace.

K separaci hledaných látek byla použita kolona Kinetex 2.6 μm Polar C18 100 A, LC Column 150 mm $\times$ 2,1 mm (Phenomenex, Kalifornie, USA) a gradientová mobilní fáze skládající se z 1 % kyseliny mravenčí ve vodě (A) a 1 % kyseliny mravenčí v methanolu (B), při průtoku 0,2 ml min⁻¹ a teplotě sloupce 50 °C; objem nástřiku vzorku byl nastaven na 2 μl . Detekce byla provedena v režimu pozitivní ionizace (kapilární napětí 2,0 kV, průtok sušicího plynu 1,49 l* min⁻¹).

Kalibrační standardy byly připraveny zředěním mateřských roztoků cílových sloučenin v rozpouštědlové směsi obsahující 1 % kyselinu mravenčí.

($\pm$)-Atropin (99 %) a (-)-skopolamin hydrochlorid (Reag. Ph. Eur.) byly získány od společností Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) a Merck (Darmstadt, Německo). Kyselina mravenčí, methanol a voda (LC-MS LiChrosolv) byly získány od Fluky (Buchs, Švýcarsko), methanol (LC-MS Chromasolv) byl zakoupen od Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

4 Výsledky a diskuze

4.1 Výsledky

Celkem bylo výše uvedenou metodou vyhodnoceno 41 vzorků. U každého vybraného výrobku ke vzorkování bylo provedeno 6 analytických opakování z různých částí výrobku. Každý výrobek byl tedy 6 x podroben analýze. Suma výsledků je 246 ze 41 vzorků.

U každého výrobků byla vypočtena směrodatná odchylka. Směrodatná odchylka se pohybovala v rozmezí hodnot 0,001 – 0,004. Z výsledků směrodatné odchylky je zřejmé, že ve sledované skupině výrobků, nebyl nalezen vzorek, kde by byl výskyt tropanových alkaloidů výrazně vyšší, ale ani se nevyskytl vzorek, kde by byl naměřen výskyt TA výrazně nižší. Svědčí to o vyrovnanosti v rámci jedné šarže daného výrobku, který byl podroben analýze.

Vzorky byly sestaveny do tabulky 11, doplněny o výrobce daného produktu, druh výrobku a zájmovou plodinu (kukuřice, pohanka, čirok, jáhly), kterou výrobek obsahuje.

Vzhledem k velkému počtu získaných hodnot a také pro větší přehlednost a možnost správného vyhodnocení, byly vytvořeny skupiny výsledků pro jednotlivé výrobce, dále byly vytvořeny skupiny podle sortimentu (jednodruhové mouky, snídaňové kaše, směsi na pečení chleba, směsi na pečení a vaření, celé zrno mleté na mouky doma) a podle nejvíce zastoupené zájmové plodiny ((kukuřice, pohanka, čirok, jáhly). Tedy pro plodiny, u kterých jsou v rámci bezpečnosti potravin Evropskou komisí vytvořeny hraniční limity. Samostatně byla vyhodnocována skupina produktů z BIO produkce.

Z každé vytvořené skupiny vznikla tabulka, ve které byl z jednotlivých měření vytvořen prostý průměr, a z takto vytvořených průměrných hodnot byl vytvořen pro danou skupinu graf. Pak bylo možné jednotlivé vzorky mezi sebou porovnávat a též je porovnávat s limitem. Jako nejnižší limitní hodnota byl použit limit z Nařízení komise (EU) 2021/1408 – změny v oddílu 8 přílohy nařízení (ES) č.1881/2006, navržené maximální limity pro tropanové alkaloidy (Evropská komise 2021) pro skupinu: Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti obsahující proso, čirok, pohanku, kukuřici nebo produkty z nich odvozené. Pokud bylo z výsledků zřejmé, že některý ze vzorků překročil i limit pro další skupiny výše

uvedeného Nařízení, pak byla do grafu pro lepší orientaci znázorněna další limitní hranice.

4.1.1 Výsledné hodnoty TA všech analyzovaných vzorků

Z Tabulky 11: Výsledné hodnoty TA všech zkoumaných vzorcích bylo zjištěno, že nejnížší zastoupení tropanových alkaloidů vykazovaly vzorky jahelné mouky od firmy Adveni 2,034 – 2,040 $\mu\text{g}/1000\text{ g}$ výrobku. Směrodatná odchylka byla u opakování tohoto vzorku v rámci zkoumání nejvýše naměřená, a to 0,004.

Nejvyšší zastoupení TA naopak vykazovaly vzorky pohankové mouky v BIO kvalitě od firmy PRO-BIO s. r. o. 7,565 – 7,569 $\mu\text{g}/1000\text{ g}$ výrobku a podobně vysoký výskyt TA vykazoval výrobek stejné sortimentní skupiny a stejné plodiny – pohanková mouka v standartní kvalitě jejíž hodnoty se pohybovaly v rozmezí 7,007 – 7,011 $\mu\text{g}/1000\text{ g}$ výrobku od firmy Natural Jihlava.

Nezpracované zrno pohanky, které bylo mleto v domácích podmínkách a před mletím vylouštěno a prohlédnuto vykazovalo taktéž hodnoty zastoupení TA kolem 7 $\mu\text{g}/1000\text{ g}$ výrobku (6,981 – 6,983). Toto zrno bylo též nakoupeno u firmy PRO-BIO s. r. o.

Podrobněji byly výsledky rozebrány v jednotlivých sortimentních skupinách.

Tabulka 2 Výsledné hodnoty TA všech zkoumaných vzorcích

vzorek číslo	číslo měření						směrodatná odchylka	Firma	Sortimentní skupina (zájmová plodina)
	1	2	3	4	5	6			
	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g			
1	2,367	2,370	2,368	2,366	2,370	2,364	0,003	Adveni	kaše instant (kukuřice)
2	3,001	3,000	3,003	3,000	2,997	2,999	0,002	Adveni	kaše instant (čirok, kukuřice)
3	2,036	2,034	2,040	2,037	2,039	2,039	0,004	Adveni	mouka (jáhly)
4	3,698	3,697	3,699	3,700	3,701	3,698	0,002	Adveni	mouka (čirok)
5	3,205	3,204	3,208	3,206	3,204	3,203	0,003	Adveni	směs chléb (kukuřice, slunečnice, len)
6	4,012	4,014	4,011	4,010	4,010	4,011	0,002	Adveni	směs chléb (kukuřice)
7	4,203	4,206	4,207	4,201	4,200	4,200	0,004	Adveni	směs chléb (kukuřice, čirok, len, slunečnice)
8	4,689	4,688	4,689	4,690	4,691	4,687	0,002	Adveni	směs chléb (kukuřice, amarant)
9	3,659	3,658	3,661	3,662	3,655	3,659	0,003	Adveni	směs vaření (kukuřice, rýže)
10	4,159	4,158	4,157	4,162	4,160	4,161	0,003	Adveni	směs pečení (kukuřice, rýže)
11	3,963	3,960	3,965	3,966	3,960	3,961	0,003	Adveni	směs pečení (rýže, kukuřice, oves)
12	4,283	4,282	4,285	4,283	4,285	4,282	0,002	Adveni	směs pečení (rýže, jáhly, čirok, slunečnice)
13	3,568	3,569	3,567	3,568	3,569	3,565	0,003	Extrudo	kaše instant polenta (kukuřice)
14	5,002	5,005	4,998	5,003	4,999	5,002	0,003	Extrudo	kaše instant (pohanka)
15	2,965	2,964	2,966	2,966	2,964	2,965	0,002	Extrudo	kaše instant (jáhly)
16	3,214	3,213	3,214	3,213	3,214	3,214	0,001	Extrudo	mouka (jáhly)
17	7,009	7,008	7,007	7,010	7,011	7,009	0,002	Natural	mouka (pohanka)
18	2,998	2,999	2,996	2,998	2,999	2,998	0,002	Natural	mouka (jáhly)
19	4,010	4,010	4,008	4,007	4,010	4,011	0,003	Natural	mouka (kukuřice)
20	3,760	3,760	3,762	3,761	3,758	3,759	0,002	Natural	mouka (čirok)
21	4,853	4,852	4,853	4,855	4,852	4,852	0,002	Natural	kaše instant (pohanka)

Tabulka 3 pokračování Výsledné hodnoty TA všech zkoumaných vzorcích

vzorek číslo	číslo měření						směrodatná odchylka	Firma	Sortimentní skupina (zájmová plodina)
	1	2	3	4	5	6			
	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g	TA μg/1000 g			
22	3,004	3,002	3,003	3,004	3,005	3,006	0,002	Natural	kaše instant (jáhly)
23	3,852	3,852	3,853	3,852	3,851	3,852	0,001	Natural	kaše instant (kukuřice)
24	5,687	5,689	5,685	5,685	5,689	5,687	0,003	PRO-BIO	BIO kaše instant (kukuřice)
25	7,568	7,569	7,572	7,566	7,568	7,565	0,004	PRO-BIO	BIO mouka (pohanka)
26	4,368	4,369	4,366	4,368	4,372	4,364	0,004	PRO-BIO	BIO mouka (kukuřice)
27	3,659	3,657	3,659	3,662	3,657	3,659	0,002	PRO-BIO	směs pečení (pohanka, čirok, kukuřice)
28	4,057	4,057	4,059	4,055	4,058	4,056	0,002	mleto doma	BIO zrna (čirok)
29	6,982	6,982	6,983	6,981	6,982	6,982	0,001	mleto doma	BIO zrna (pohanka)
30	4,582	4,580	4,585	4,581	4,582	4,582	0,004	mleto doma	BIO zrna (kukuřice)
31	3,658	3,656	4,657	4,659	4,659	4,659	0,002	mleto doma	BIO zrna (jáhly)
32	6,045	6,042	6,045	6,042	6,047	6,046	0,003	NOMINAL	kaše instant (pohanka)
33	2,956	2,956	2,958	2,954	2,956	2,956	0,002	NOMINAL	kaše instant (čirok)
34	3,268	3,268	3,266	3,270	3,268	3,268	0,002	NOMINAL	kaše instant (jáhly)
35	2,968	2,969	2,968	2,966	2,969	2,968	0,003	NOMINAL	kaše instant (kukuřice)
36	3,01	3,012	3,010	3,008	3,010	3,010	0,003	NOMINAL	směs pečení (depr. pšenice, lupina, kukuřice, len)
37	4,214	4,213	4,212	4,215	4,216	4,214	0,002	NOMINAL	směs chléb (depr. pšenice, lupina, jáhly)
38	3,567	3,567	3,568	3,566	3,567	3,567	0,001	NOMINAL	směs chléb (depr. pšenice, lupina, jáhly, chia)
39	2,813	2,810	2,815	2,810	2,815	2,815	0,003	NOMINAL	směs chléb (depr. pšenice, lupina, jáhly, len)
40	6,203	6,203	6,204	6,202	6,203	6,203	0,002	NOMINAL	směs chléb (depr. pšenice, lupina, pohanka)
41	4,284	4,284	4,281	4,287	4,284	4,284	0,003	NOMINAL	směs vaření (depr. pšenice, lupina, pohanka)

4.2 Diskuze

4.2.1 Diskuze sortiment snídaňové kaše

Pokud tedy porovnáme mezi sebou výskyty tropanových alkaloidů u jednotlivých sortimentních skupin: směsi pro pečení chleba a pečiva, směsi na vaření a pečení (moučníků), skupinu jednodruhové mouky, pak můžeme konstatovat, že nálezy tropanových alkaloidů u zkoumaných potravinářských výrobků jsou vyrovnané a nepřesahují limity dané evropskou legislativou. Z tohoto pohledu tedy neexistují výrazné rozdíly vzhledem k obsahu TA ve výše uvedených skupinách potravin a tyto jsou tedy pro běžného konzumenta bezpečné.

Jedinou skupinou, která se jeví velmi spornou z pohledu získaných dat o výskytu tropanových alkaloidů a limitního nastavení pro skupinu je skupina výrobků snídaňové kaše.

Při porovnání průměrné hodnoty TA u jednotlivých výrobků instantních kaší s limitní hranicí 1 μg atropinu nebo 1 μg scopolaminu na 1000 g výrobku vztaženou k obilným výrobkům pro kojence a malé děti (skupina 8.2.1. – Nařízení komise (EU) 2021/1408), vykazovaly překročení tohoto limitu všechny výrobky. Je třeba si však uvědomit, že ve všech měřených vzorcích byla vždy měřena suma obou látek, i vzhledem k tomu, že další limitní hodnoty jsou v evropské legislativě porovnávány vždy k sumě těchto chemických látek v potravině.

Literatura udává, že v rostlině se obvykle objevuje minimálně jeden dominantně zastoupený alkaloid doprovázen minoritními, které mají stejnou základní strukturu, ale liší se například v pozici hydroxylových a methylových skupin, počtem a polohou dvojných vazeb nebo různými substituenty (Spilková, Martin a Siatka, 2023).

Z hlediska legislativy však sledované výrobky sortimentu snídaňové kaše, určené pro rychlou přípravu, nejsou na obalu označeny jako příkrmy pro kojence či malé děti, tedy deklarace, že jsou určeny pro batolata a malé děti v souladu s vyhláškou č. 54/2004 Sb., o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití (Anonym 19, 2004).

Dle výše uvedené vyhlášky by tedy neměly být zařazovány mezi potraviny pro kojence a malé děti, tedy teoreticky by pro ně limit skupina 8.2.1. – Nařízení komise (EU) 2021/1408 neměl platit.

Praktické zkušenosti, hlavně u skupiny celiaků, kteří jsou odkázáni na tyto potraviny, jsou však jiné. Vzhledem k finanční náročnosti bezlepkové diety jako takové, a i z pohledu zachování vyváženého a pestrého jídelníčku jsou právě tyto kaše zařazovány a doporučovány výživovými poradci, a dokonce i pediatry do jídelníčku předškolních dětí i batolat celiaků poměrně často. Dalším benefitem těchto kaší je rychlá příprava i skutečnost, že řada z nich z výroby není doslazována klasickým bílým cukrem.

Navíc výsledky zkoušek dětských příkrmů a obilných potravin pro malé děti včetně kaší v evropském prostoru, hovoří jasně o tom, že obilné potraviny pro děti jsou TA značně zatíženy: V Norsku byl podle průzkumu Norského úřadu pro bezpečnost potravin (Mattilsynet) roce 2018 zjištěn atropin ve čtyřech ze 14 vzorků obilných potravin určených pro děti. Deset z nich byla obilná kaše a čtyři zpracovaná obilná dětská výživa. V roce 2017 byl atropin zjištěn ve třech z 35 vzorků obilných příkrmů a potravin určených pro děti. Dva z těchto produktů pocházely ze Švédska a jeden ze Slovenska (Anonym 20, 2019).

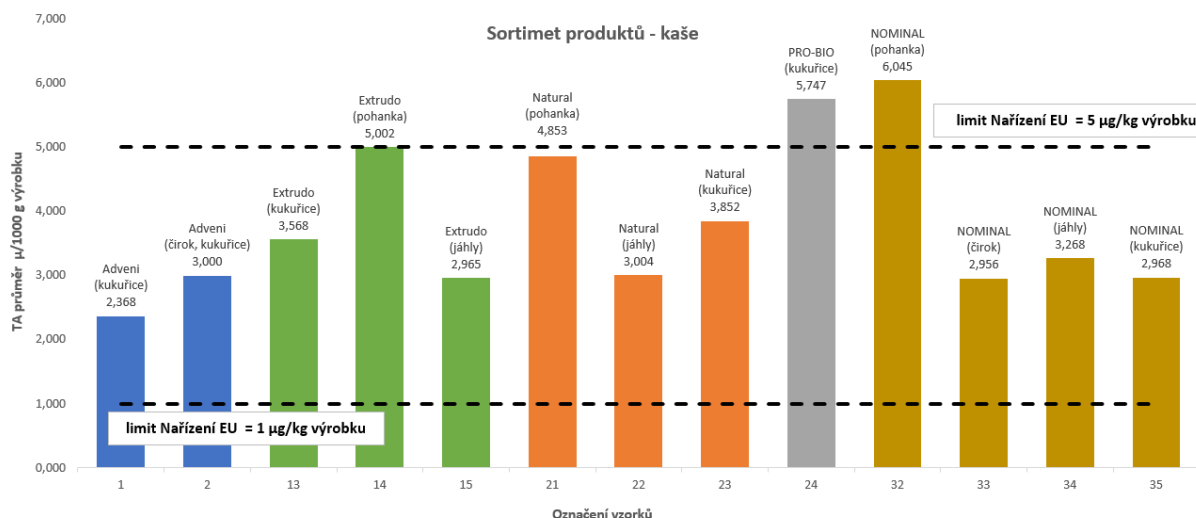
Jedna porce pro malé dítě se většinou sestává z 5 – 6 polévkových lžic instantní kaše (cca 50 g) a 150 ml horkého mléka či jeho alternativy. O tepelné degradaci TA varem nelze u instantních kaší úplně uvažovat, vzhledem ke skutečnosti, že voda na zalití kaše by měla mít cca 80 °C a pak už výrobek rychle chladne v řádech několika minut. Nicméně konzumace kaše je u malých dětí a batolat v rámci jídelníčku většinou 2 – 3 x za 24 hodin (snídaně, večeře, druhá večeře).

Hmotnost dvouletého dítěte se pohybuje kolem 10 kg. V tomto případě by takové dítě mohlo dle referenční dávky maximálně konzumovat 0,16 µg tropanových alkaloidů za 24 hodin. Při hladině 5 µg TA v 1 000 g instantní kukuřičné kaše od firmy PRO – BIO (zjištěna průměrná hladina 5,747 µg TA na 1000 g výrobku) vychází maximální denní (24 hodin) maximální dávka 30 g kaše pro takového dětského konzumenta. Při zkoumání evropské legislativy týkající se výživy batolat a malých dětí bylo zjištěno, jakým věkem je ohraničen termín – malé dítě. Článek 2 Směrnice komise EU 2006/125/ES stanovuje pod pojmem „malé dítě“ dítě ve věku od jednoho do tří let věku (Anonym 21, 2006). Není však možné výše uvedeným zkoumáním vyhodnotit, zda je zvýšená spotřeba bezlepkových instantních kaší v domácnostech celiaků a alergiků na lepkové obiloviny, s možným obsahem TA, nebezpečná pro skupinu batolat a malých dětí – celiaků a alergiků.

Vyvstává tedy otázka, zda by nebylo vhodné došetřit odborným panelem EFSA tuto skupinu pacientů, kteří musí cíleně vyhledávat tyto potraviny – celiaci a alergici na pšeničné bílkoviny a často je používají do jídelníčku batolat a malých dětí – celiaků a alergiků.

Do grafu byla pro porovnání hladin TA vložena přímková limitní hodnota 5 µg TA na 1000 g výrobku, která je limitní hranicí vztaženou k obilným výrobkům pro skupinu 8.2.5 Proso, čirok a kukuřice uváděné na trh pro konečného spotřebitele, Výrobky z mletého prosa, čiroku a kukuřice (obrázek 18).

Obrázek 3 Grafické znázornění hladin TA v sortimentu instantních kaší



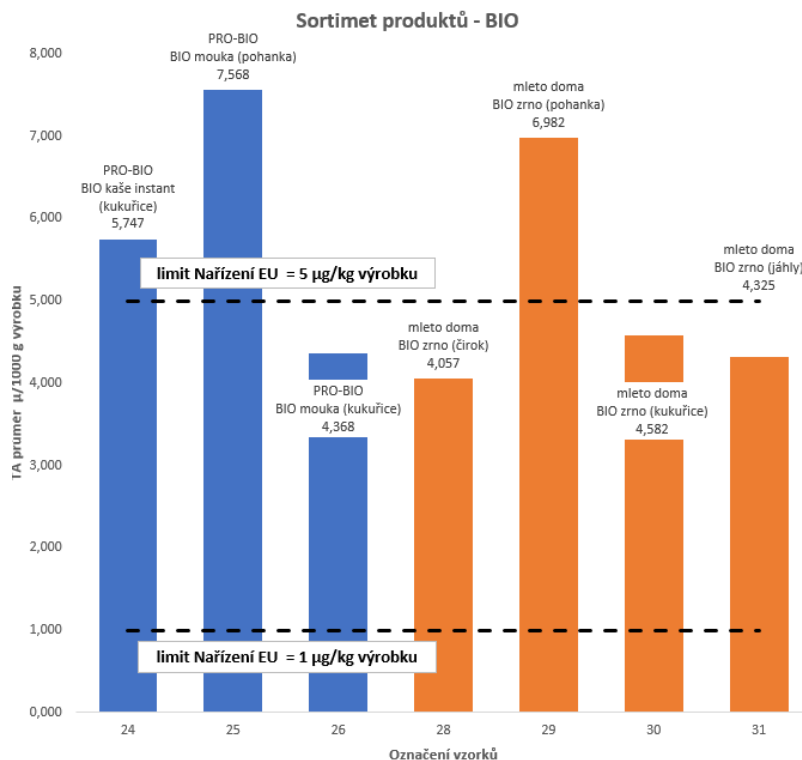
4.2.2. Diskuze BIO výrobky

Výrobky z BIO produkce jsou mezi pacienty s celiakií poměrně vyhledávány. Velké množství pacientů získává po diagnóze pocit, že směsové výrobky určené pro celiaky nejsou zdravé a nakupují raději jednodruhové mouky v BIO kvalitě, stejně tak jako nakupují v BIO kvalitě zrna a melou si jej sami doma např. na mlýnku na kávu. Na českém trhu s BIO produktů mouk a výrobků bez lepku figuruje pouze firmy PRO-BIO s. r. o., která disponuje vlastním bezpečným mlýnem a svou BIO produkcí obilovin i pseudoobilovin.

Při porovnání průměrné hodnoty TA u jednotlivých výrobků s limitní hranicí 1 µg TA na 1000 g výrobku vztahenou k obilným výrobkům pro kojence a malé děti skupina 8.2.1. – Nařízení komise (EU) 2021/1408, vykazovaly překročení tohoto limitu všechny výrobky. Kromě BIO kukuřičné kaše však nejsou ostatní výrobky (mouky a zrna k mletí) určené k denní a konzistentní konzumaci pro malé děti.

Jak už bylo rozebráno v sortimentní skupině kaše také limit pro skupinu 8.2.5 Proso, čirok a kukuřice uváděné na trh pro konečného spotřebitele, Výrobky z mletého prosa, čiroku a kukuřice byl překročen s průměrným výsledkem 5,747 µg TA na 1000 g výrobku u PRO-BIO instantní kukuřičné kaše (polenty) z ekologického zemědělství. Pokud bychom zde počítali s chybou měření, stále se dostáváme nad limit pro skupinu 8.2.5. čirok, jáhly, kukuřice. V tomto případě by tedy bylo vhodné nakoupit další šarže tohoto produktu a vytvořit větší soubor vzorků ke konečnému vyhodnocení daného produktu. V případě podobných nálezů by měl být výrobek na základě rozhodnutí SZPI jako dozorového orgánu stažen z prodeje. (obrázek 19)

Obrázek 4 Grafické znázornění hladin TA v sortimentu BIO produktů včetně doma mletého zrna



Vyšší výskyt TA oproti ostatním vzorkům při porovnání průměrných hodnot vykazovaly opět vzorky obsahující pohanku – BIO pohanková mouka jednodruhovná, výrobce firmy PRO-BIO s. r. o. hladina TA 7,568 μg TA na 1000 g výrobku a BIO pohanka loupaná kroupa, opět výrobce PRO-BIO s. r. o., hladina TA 6,982 μg TA na 1000 g. Tato pohanka byla prohlédnuta a suchá byla namleta doma na podobnou zrnitost jako prodávané BIO mouky.

Získaná průměrná hodnota z 6 měření u obou vzorků pohanky nepřekročila limit pro skupinu 8.2.6 Nařízení komise (EU) 2021/1408 Pohanka uváděná na trh pro konečného spotřebitele, výrobky z mleté pohanky. Navýšení tohoto limitu odborným panelem evropské komise pro bezpečnost potravin má zřejmě své opodstatnění vzhledem k tomu, že zaplevelení pohanky rostlinami obsahující TA je zřejmé. Např. druhy *Datura* (durman) a *Fagopyrum* (pohanka) ve skutečnosti produkují a dozrávají téměř současně a produkují semena podobné velikosti a hmotnosti. To může být zvláště důležité pro ekologické zemědělství, protože méně přísné hospodaření s plevem může umožnit zvýšenou přítomnost potenciálně nebezpečných rostlin na poli spolu s plodinami (Cirlini *et al.*, 2018).

5 Závěr

Hlavním cílem disertační práce bylo posoudit zdravotní nezávadnost bezlepkových potravin vhodných pro skupinu spotřebitelů vyhledávající „zdravé a bezlepkové suroviny“ a hlavně pro celiaky – pacienty s bezlepkovou dietou, se zaměřením na obsah tropanových alkaloidů (atropin a scopolamin) dostupných na českém trhu vzhledem k neustále se zpřísňujícím limitům obsahu TA v potravinách. Právě skupina celiaků, případně alergiků na pšeničné bílkoviny konzumuje celozrnné bezlepkové potraviny v daleko větší míře než běžná populace, neboť složení jejich stravy je dáno zdravotní bezlepkovou dietou.

V teoretické části byla provedena rešerše domácí i zahraniční literatury se zaměřením na vysvětlení základních pojmů, týkajících se bezpečnosti potravin, bezpečnosti bezlepkových potravin, včetně evropské legislativy, která tuto problematiku zaštiťuje a vysvětlení základních pojmů týkajících se bezlepkové diety a onemocnění spojených s geneticky podmíněnou nesnášenlivostí lepku.

V rámci výzkumné části byly položeny tři otázky a výzkum rozdělen do několika okruhů. V praktické části byl provedeno laboratorní zpracování 41 vzorků obsahujících zájmové plodiny – čirok, jáhly, kukuřice, pohanku, které byly nakoupeny na českém trhu. Vzorky byly laboratorně zpracovány metodou HPLC – chromatografickou technikou sloužící ke stanovení přítomnosti i koncentrace látek, v našem případě se jednalo o stanovení sumy tropanových alkaloidů (atropin a scopolamin). U každého vzorku (41 ks) bylo provedeno 6 analytických opakování. Výsledné hodnoty odečtené přístrojem byly zavedeny do tabulky a z hodnot proveden prostý průměr, tak, aby bylo možné vzorky porovnávat mezi sebou a znázorňovat graficky.

Pro větší přehlednost grafického znázornění a vzhled do problematiky byly z průměrných hodnot vzorků vytvořeny skupiny – sortiment firma (Adveni, Extrudo, Natural, Nominal, PRO-BIO, domácí mletí), sortimentní skupina dle zájmové plodiny (čirok, jáhly, kukuřice, pohanka), sortimentní skupina dle výsledného použití (mouky, kaše, směs na pečení chleba, směs na vaření a pečení), sortimentní skupina BIO (firma PRO-BIO, vlastní mletí BIO zrna). A do grafů byly přidány limitní hladiny pro skupinu 8.2.1 a skupinu 8.2.5 – Nařízení komise (EU) 2021/1408 – změny v oddílu 8 přílohy nařízení (ES) č.1881/2006.

Limit pro bezpečnou konzumaci byl překročen u vzorku BIO kukuřičné kaše od firmy PRO-BIO s. r. o., na hranici kopírující limit výše uvedeného nařízení byla zjištěna hladina TA z průměrné hodnoty vzorku výrobku instantní pohanková kaše od firmy EXTRUDO Bečice s. r. o.

Nejvyšší výskyty TA byly zaznamenány u výrobků z pohanky – mouky z produkce firmy Natural Jihlava s r. o., BIO pohankové mouky z produkce firmy PRO-BIO s. r. o a BIO mletého zrna zpracovaného domácím mletím taktéž z produkce firmy PRO-BIO s. r. o. Naměřené hodnoty však nezasahovaly do bezpečného limitu pro konzumaci. Nicméně je jisté, že odborníci EFSA jsou si vědomi vyšších výskytů u této plodiny, a proto i limitní hranice je postavena na hladině 10 µg/ 1000 g výrobku.

Po vyhodnocení všech vzorků a všech sortimentních skupin lze konstatovat, že potraviny obsahující zájmové plodiny dostupné na českém trhu jsou vzhledem k nízkému obsahu tropanových alkaloidů skutečně bezpečné. Je třeba si však uvědomit, že limity pro tropanové alkaloidy dané evropským nařízením jsou vypočteny pro zdravou populaci, nikoliv pro pacienty s autoimunitním onemocněním – celiakií, či alergiemi na pšeničné či jiné lepkové produkty, kteří trpí problémy s gastrointestinálním traktem, někdy až rozvratem organismu před stanovením diagnózy a jsou na tyto bezlepkové potraviny takřka odkázáni. Pokud tedy v posledních 10 letech dochází u bezlepkovým surovina a výrobků k nálezům TA i 100 x překračujícím dané limity (hlášení v systému RASFF) je třeba provádět daleko více kontrol u zájmových sortimentních skupin potravin a případně právě tuto skupinu pacientů rychle varovat před možnou konzumací. Proto byly v diskuzi vzneseny další výzkumné otázky, které přineslo toto výzkumné šetření a jeví se jako důležité z hlediska zkoumaných oblastí.

Seznam použité literatury

Citace knihy

Jeden autor

ANISZEWSKI, T.; 2015. Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and Applications [online]. Amsterdam: Elsevier Science. ISBN 978-0-444-59462-4.

BASS, S., 2013. Celiakie: úspěšná léčba nesnášenlivosti lepku [online]. České vyd. 1. Praha: Jan Vašut. ISBN 978-80-7236-839-6.

DUPIN, O., 2014. Bez lepku a chutně! jak vařit z přirozeně bezlepkových potravin [online]. Vyd. 1. Praha: Synergie. Bezlepková kuchařka; s. 13. ISBN 978-80-7370-272-4.

HOFFMANOVÁ, I., 2019a. Celiakie. První vydání. Praha: Mladá fronta. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-5414-0.

HRDINA, V., ed., 2004. Přírodní toxiny a jedy. Praha: Galén : Karolinum. ISBN 978-80-7262-256-6.

VRZALOVÁ, R., 2022. Z Radčína rodinného receptáře: jak vařit úsporně bez lepku, mléka a jiných alergenů [online]. Vydání 1. Praha: Grada. ISBN 978-80-271-3724-4.

Dva autoři

FRIČ, P. a MENGEROVÁ, O., 2008. Celiakie: bezlepková dieta a rady lékaře. Vyd. 1. Čestlice: Medica Publishing. Dieta; s. 5, sv. 16. ISBN 978-80-85936-62-9.

KOHOUT, P. a PAVLÍČKOVÁ, J., Sdružení celiaků České republiky, 2010. Celiakie: víte si rady s bezlepkovou dietou? [online]. 1. přeprac. vyd. Praha: Forsapi. Rady lékaře, průvodce dietou, sv. 10. ISBN 978-80-87250-09-9.

Tři a více autorů

SPILKOVÁ, J., MARTIN, J. a SIATKA, J., 2023. Farmakognozie. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze.

Citace kapitoly v knize

Jeden autor

BROWN, J. H., 1990. Atropine, scopolamine and related antimuscarinic drugs. In Pharmacological Basis of Therapeutics. In: Louis Sanford GOODMAN, Alfred GILMAN a Alfred Goodman GILMAN, ed. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of

therapeutics [online]. B.m.: New York: Pergamon Press [vid. 2024-07-07]. ISBN 978-0-08-040296-3. Dostupné z: <http://archive.org/details/goodmangilmansphe8good>
PEŇA, A. S., 1991. History of coeliac disease. Dicke and the origin of the gluten-free diet. In: MEARIN M. L., MULDER, Chr J., Coeliac Disease: Developments in Gastroenterology. Softcover reprint of the original 1st ed. 1991 edition. B.m.: Springer. ISBN 978-90-481-4087-9.

Citace článku v odborném časopise

Bez uvedeného autora

Anonym 3 EFSA, 2013. Panel on Contaminants in the Food. Chain (CONTAM), 2013c. Scientific Opinion on Tropane alkaloids in food and feed. EFSA Journal [online]. 11(10), 3386 [vid. 2024-07-03]. ISSN 1831-4732. Dostupné z: [doi:10.2903/j.efsa.2013.3386](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3386)

Anonym 12., 2013. Možná se to týká i Vás Sdružení jihočeských celiaků: Informační bulletin. 1, 23; s. 8.

Jeden autor

LUGASI, A., 2023. Tropane alkaloids in food – real and perceived risks. Elelmiszervizsgalati Kozlemenyek [online]. 69(1), 4317–4336. Dostupné z: [doi:10.52091/EVIK-2023/1-1-ENG](https://doi.org/10.52091/EVIK-2023/1-1-ENG)
NEVORAL, J., 2016. Celiakie u dětí. Postgraduální gastroenterologie & hepatologie. 2(1–4), 172–184.

PŘIBYLOVÁ, P., 2012. Bezlepková dieta pro praxi. Medicína pro praxi [online]. 9(2), 78–81 [vid. 2024-07-03]. ISSN 12148687, 18035310. Dostupné z: http://solen.cz/artkey/med-201202-0010_Bezlepkova_dieta_pro_praxi.php

Dva autoři

GIMÉNEZ-BASTIDA, J. A. and ZIELIŃSKI, H., 2015. Buckwheat as a Functional Food and Its Effects on Health. Journal of Agricultural and Food Chemistry [online]. 63(36), 7896–7913. ISSN 1520-5118. Dostupné z: [doi:10.1021/acs.jafc.5b02498](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02498)

HOFFMANOVÁ, I. a SÁNCHEZ, D., 2015. Neceliakální glutenová senzitivita. Vnitřní lékařství [online]. 61(3), 219–227 [vid. 2024-06-29]. ISSN 0042773X, 18017592. Dostupné z: http://casopisvnitrnilekarstvi.cz/artkey/vnl-201503-0009_non-celiac-gluten-sensitivity.php

KOŽELJ, G. and PROSEN, H., 2021. Thermal (In)stability of Atropine and Scopolamine in the GC-MS Inlet. Toxics [online]. 9(7), 156 [vid. 2024-07-03]. ISSN 2305-6304. Dostupné z: [doi:10.3390/toxics9070156](https://doi.org/10.3390/toxics9070156)

MATOS, M. E. and ROSELL, C. M., 2015. Understanding gluten-free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance. Journal of the Science of Food and Agriculture [online]. 95(4), 653–661. ISSN 1097-0010. Dostupné z: [doi:10.1002/jsfa.6732](https://doi.org/10.1002/jsfa.6732)

PATIL, S. and ARYA, S., 2017. Nutritional, functional, phytochemical and structural characterization of gluten free flours. *Journal of Food Measurement and Characterization* [online]. 11(3), 1284–1294. Dostupné z: doi:10.1007/s11694-017-9506-5

RYBICKA, I. and GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A., 2017. Gluten-Free Flours from Different Raw Materials as the Source of Vitamin B1, B2, B3 and B6. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* [online]. 63(2), 125–132. Dostupné z: doi:10.3177/jnsv.63.125

Tři a více autorů

BEERMANN, B., HELLSTRÖM, K. and ROSÉN, A., 1971. The Gastrointestinal Absorption of Atropine in Man. *Clinical Science* [online]. 40(1), 95–106 [vid. 2024-07-03]. ISSN 0009-9287. Dostupné z: doi:10.1042/cs0400095

BUREŠOVÁ, I., TOKÁR, M., MAREČEK, J., HŘIVNA, L., FAMĚRA, O. a ŠOTTNÍKOVÁ, V., 2017. The comparison of the effect of added amaranth, buckwheat, chickpea, corn, millet and quinoa flour on rice dough rheological characteristics, textural and sensory quality of bread. *Journal of Cereal Science* [online]. 75, 158–164 [vid. 2024-07-03]. ISSN 0733-5210. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcs.2017.04.004

CASADO, N., GAÑÁN, J., MORANTE-ZARCERO, S. and SIERRA, I., 2024. Recent food alerts and analytical advances related to the contamination of tropane and pyrrolizidine alkaloids in food. *Frontiers in Chemical Biology* [online]. 3, 1360027. Dostupné z: doi:10.3389/fchbi.2024.1360027

CIRLINI, M., DEMUTH, T., M., BIANCARDI, A., RYCHLIK, M., DALL'ASTA, CH. and BRUNI, R., 2018. Are tropane alkaloids present in organic foods? Detection of scopolamine and atropine in organic buckwheat (*Fagopyron esculentum* L.) products by UHPLC–MS/MS. *Food Chemistry* [online]. 239, 141–147 [vid. 2024-07-07]. ISSN 0308-8146. Dostupné z doi:10.1016/j.foodchem.2017.06.028

EL KHOURY, D., BALFOUR-DUCHARME, S. and JOYE, I. J., 2018. A Review on the Gluten-Free Diet: Technological and Nutritional Challenges. *Nutrients* [online]. 10(10), 1410 [vid. 2024-07-03]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu1010110

GONZÁLEZ-GÓMEZ, L., GAÑÁN, J., MORANTE-ZARCERO, S., PÉREZ-QUINTANILLA, D. and SIERRA, I., 2020. Sulfonic Acid-Functionalized SBA-15 as Strong Cation-Exchange Sorbent for Solid-Phase Extraction of Atropine and Scopolamine in Gluten-Free Grains and Flours. *Foods* [online]. 9, 1854. Dostupné z: doi:10.3390/foods9121854

GONZÁLEZ-GÓMEZ, L., PEREIRA, J., A., M., MORANTE-ZARCERO, S., CÂMARA, J., S. and SIERRA, I., 2022. Green extraction approach based on μ SPEd® followed by HPLC-MS/MS for the determination of atropine and scopolamine in tea and herbal tea infusions. *Food Chemistry* [online]. 394, 133512 [vid. 2024-07-07]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.133512

- HAJŠLOVÁ, J., NOVÁKOVÁ, A., SVOBODOVÁ, V., BENEŠ, F., HRICKO, J. a STRÁNSKÁ, M., 2018. Charakterizace alkaloidů a kanabinoidů v rostlinných produktech [online]. 2. listopad 2018. B.m.: Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí. [vid. 2024-07-03]. Dostupné z: doi:10.5281/zenodo.1476947
- CHVÁTALOVÁ, T., VEPŘEKOVÁ, G., HOUSKA, A. a FRÍČ, P., 2012. Celiakie - opomíjená diagnóza. Vnitřní lékařství [online]. 58(2), 99–103 [vid. 2024-07-02]. ISSN 0042773X, 18017592. Dostupné z: http://casopisvnitrnilekarstvi.cz/artkey/vnl-201202-0004_celiac-disease-a-missed-diagnosis.php
- MEIJER, C., SHAMIR, R., SZAJEWSKA, H. and MEARIN, M., 2018. Celiac Disease Prevention. Frontiers in Pediatrics [online]. 6. Dostupné z: doi:10.3389/fped.2018.00368
- MULDER, P., NIJS, M., CASTELLARI, M., HORTÓS, M., MACDONALD, S., CREWS, C., HAJŠLOVÁ, J. and STRÁNSKÁ, M., 2016. Occurrence of tropane alkaloids in food. EFSA Supporting Publications [online]. 13. Dostupné z: doi:10.2903/sp.efsa.2016.EN-1140
- NAIK, R. D., SEIDNER, D. L. and ADAMS, D. W., 2018. Nutritional Consideration in Celiac Disease and Nonceliac Gluten Sensitivity. Gastroenterology Clinics of North America [online]. 47(1), Nutritional Management of Gastrointestinal Disease, 139–154 [vid. 2024-07-01]. ISSN 0889-8553. Dostupné z: doi:10.1016/j.gtc.2017.09.006
- ROCCHETTI, G., LUCINI, L., RODRIGUEZ, J. M. L., BARBA, F. J. and GIUBERTI, G., 2019. Gluten-free flours from cereals, pseudocereals and legumes: Phenolic fingerprints and in vitro antioxidant properties. Food Chemistry [online]. 271, 157–164 [vid. 2024-07-03]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.07.176
- SAPONE, A., BAI, J. C., CIACCI, C., DOLINSEK, J., GREEN, P. H. R., HADJIVASSILIOU, M., KAUKINEN, K., ROSTAMI, K., SANDERS, D. S., SCHUMANN, M., ULLRICH, R., VILLALTA, D., VOLTA, U., CATASSI, C. and FASANO, A., 2012. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. BMC Medicine [online]. 10(1), 13 [vid. 2024-07-02]. ISSN 1741-7015. Dostupné z: doi:10.1186/1741-7015-10-13
- SAWABE, Y., YAMASAKI, K., TAGAMI, T., KAWAGUCHI, M. and TAGUCHI, S., 2011. Rapid determination of atropine and scopolamine content in scopolia extract powder by HPLC. Journal of Natural Medicines [online]. 65(2), 395–399. ISSN 1861-0293. Dostupné z: doi:10.1007/s11418-010-0483-9
- SINGH, P., ARORA, A., STRAND, T. A., Daniel A. LEFFLER, D. A., CATASSI, C., GREEN, P. H., KELLY, C. P., AHUJA, V. and MAKHARIA, G. K., 2018. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. Clinical Gastroenterology and Hepatology [online]. 16(6), 823-836.e2 [vid. 2024-06-30]. ISSN 1542-3565, 1542-7714. Dostupné z: doi:10.1016/j.cgh.2017.06.037

Citace právních pramenů

Právní předpisy České republiky

Anonym 5, MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, 2000. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 403/2000 Sb., kterou se určují druhy zemědělského zboží, na něž je možné vystavovat zemědělské skladní listy, a podmínky pro provozování zemědělských veřejných skladů; v platném znění §2 a příloha č. 4. eAGRI [online] [vid. 2024-07-02]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/portal/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/uplna-zneni/vyhlaska-2000-403-ekon-nastroje-puv>

Anonym 19, MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, 2004. Vyhláška č. 54/2004 Sb., o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití. MZe [online] [vid. 2024-09-03]. Dostupné z: <https://mze.gov.cz/public/portal/mze/legislativa/ostatni/vyhlaska-2004-54-potr>

Právní předpisy evropských společenství

Anonym 4, Nařízení Komise (EU) č. 742/2010 ze dne 17. srpna 2010 o změně nařízení (EU) č. 1272/2009, kterým se stanoví společná prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 1234/2007, pokud jde o nákup a prodej zemědělských produktů v rámci veřejné intervence [online]. 17. srpen 2010. [vid. 2024-07-02]. Dostupné z: <http://data.europa.eu/eli/reg/2010/742/oj/ces>

Anonym 7, Komise EU, 2021. (EU) 2021/1408 - Nařízení Komise (EU) 2021/1408 ze dne 27. srpna 2021. Esipa.cz. esipa.cz [online] [vid. 2024-06-28]. Dostupné z: <https://esipa.cz/sbirka/sbsrv.dll/sb?DR=SB&CP=32021R1408>

Anonym 15, Komise EU, 2016. Nařízení Komise (EU) 2016/239 ze dne 19. února 2016, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity tropanových alkaloidů v některých obilných příkrmech pro kojence a malé děti (Text s významem pro EHP) [online]. 19. únor 2016. [vid. 2024-07-03]. Dostupné z: <http://data.europa.eu/eli/reg/2016/239/oj/ces>

Anonym 21, Komise EU, 2006. Směrnice Komise 2006/125/ES ze dne 5. prosince 2006 o obilných a ostatních příkrmech pro kojence a malé děti. (Text s významem pro EHP) [online]. 5. prosinec 2006. [vid. 2024-07-03]. Dostupné z: Směrnice - 2006/125 - EN - EUR-Lex (europa.eu)

Citace článku ve sborníku z konference

Bez uvedeného autora

Anonym 11, MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY, [2011]. Cílený screening celiakie. Ministerstvo zdravotnictví [online]. [vid. 2024-07-02]. Dostupné z: <https://mzd.gov.cz/vestnik/vestnik-c-3-2011/>

Citace webových zdrojů

Bez uvedeného autora

Anonym 1 EFSA, 2023. Kampan EFSA vysvětlující pojmy nebezpečí a riziko. Bezpečnost potravin [online] [vid. 2024-06-27]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/kampan-efsa-vysvetlujici-pojmy-nebezpeci-a-riziko/>

Anonym 2 SZPI, 2016. Označování potravin z hlediska obsahu lepku. szpi.gov.cz [online] [vid. 2024-06-28]. Dostupné z: <https://www.szpi.gov.cz/clanek/oznacovani-potravin-z-hlediska-obsahu-lepku.aspx>

Anonym 6, MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, ODBOR BEZPEČNOSTI POTRAVIN, 2019. Diskutovaná témata v oblasti kontaminantů v potravinách – říjen 2019. Bezpečnost potravin [online] [vid. 2024-06-28]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/diskutovana-temata-v-oblasti-kontaminantu-v-potravinach-rijen-2019/>

Anonym 20, FOOD SAFETY NEWS, 2019. Norway finds tropane and pyrrolizidine alkaloids in food samples. Food Safety News [online] [vid. 2024-07-04]. Dostupné z: <https://www.foodsafetynews.com/2019/09/norway-finds-tropane-and-pyrrolizidine-alkaloids-in-food-samples/>

S uvedeným autorem

KOCOUREK, V., 2024. Alkaloidy a další biologicky aktivní látky - Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. www.vscht.cz [online] [vid. 2024-07-03]. Dostupné z: https://www.vscht.cz/veda-a-vyzkum/vyzkumny-profil-vscht-praha/laboratore/akreditovane-laboratore/mzl/73909?cookie%5bonly_desktop%5d=1

STARNOVSKÁ, T., 2016. Bezlepková dieta. Fórum zdravé výživy [online] [vid. 2024-06-27]. Dostupné z: <http://www.fzv.cz/bezlepkova-dieta/>