



Studie kvality masa v burgerech McDonalds

Zadavatel: McDonald's ČR spol. s r.o., Řevnická 170/4, 155 21 Praha 5

Zadání:

- 1) Provést nezávislý odběr vzorků grilovaného a syrového masa v restauracích McDonalds
- 2) Ověřit obsah masa v grilovaných plátcích do burgerů McDonalds
- 3) Ověřit přítomnost jiných živočišných druhů než skotu v mase do burgerů McDonalds.

Odpovědní řešitelé: Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Ing. Magdaléna Hrubá

Místo vypracování: VŠCHT Praha

Ústav konzervace potravin

Ústav biochemie a mikrobiologie

Technická 1905

166 28 Praha 6

Datum vypracování: červen 2018 – říjen 2019

VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE
Ústav konzervace potravin
Technická 5, 166 28 Praha 6

- 1 -

doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Hovězí maso

Nařízení (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům definuje maso jako kosterní svalovinu savců a ptáků (uznaných za vhodné k lidské spotřebě) s přirozeně obsaženou nebo přilehlou tkání. Maso je zdrojem tzv. téměř plnohodnotných bílkovin, tyto bílkoviny jsou snadno dostupné pro lidský organismus. Mezi neplnohodnotné bílkoviny patří například rostlinné bílkoviny a bílkoviny živočišných pojivových tkání. Pro využití v potravinářském průmyslu se bílkoviny rozdělují na následující tři skupiny:

1. Sarkoplasmatické bílkoviny během záhřevu denaturují a přispívají ke zpevnění struktury výrobku. Dále sem patří hemová barviva (hemoglobin, myoglobin), které způsobují červené zbarvení masa a krve.
2. Myofibrilární bílkoviny jsou bílkoviny, které se vyskytují ve svalové tkáni, a díky nim probíhá kontrakce svalu, nejvýznamnějšími zástupci jsou aktin a myosin.
3. Stromatické bílkoviny nebo také bílkoviny pojivových tkání, vyskytují se především ve vazivech, šlachách, kůži a kostech. Nejznámějším zástupcem je kolagen, jehož vlastností se využívá při tvorbě želatiny.

Z výživového hlediska je maso významným zdrojem (kromě bílkovin) vitaminů (zejména skupiny B: thiaminu, riboflavinu a vitamínu B12) a minerálních látek (hlavně železa, vápníku a zinku).

Metoda stanovení masa

Maso se stanoví jako součet tzv. tukuprostého masa a tuku který je součástí svalů a přilehlých tkání. Tukuprosté maso se stanoví z obsahu dusíku pocházejícího z masa, což je celkových dusík po odečtu dusíku z cizích zdrojů a dusíku z nadbytečně přidané pojivové tkáně. Pojivová tkáň je tvořena především kolagenem, který obsahuje aminokyseliny 4-hydroxyprolin. Tato specifická aminokyselina je využívána pro stanovení kolagenu. Maximální množství tuku v mase je limitováno a v případě hovězího masa je limit obsahu tuku 25 % podle nařízení (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům. Pokud vzorek obsahuje zdroj bílkovinného dusíku nepocházejícího z masa, o který není celkový dusík korigován, může být konečný výsledek nadhodnocen.

Metodika odběru

V průběhu září a října byly postupně v 18 restauracích McDonald's odebrány vzorky výrobku McRoyal 4:1 a Hamburger 10:1. Pro stanovení masa byl odebrán grilovaný neosolený vzorek

vždy v množství 600 g a pro ověření původu masa byl vždy odebrán syrový zmražený vzorek v množství 100 g.

Tabulka 1: Termíny odběrů v jednotlivých restauracích McDonald's

Restaurace		Odběr dne
1	Praha, Vodičkova 15	27. 09. 2018
2	Václavské náměstí 9, Praha, Václavské náměstí	27. 09. 2018
3	Na Příkopě 10, Praha, Na Příkopě (Savarin)	27. 09. 2018
4	Sokolovská 2080, Praha, Florenc	04. 10. 2018
5	Českomoravská 2420/15a, Praha, Galerie Harfa	04. 10. 2018
6	Náměstí Republiky 1078/1, Praha, Palladium	04. 10. 2018
7	Milady Horákové 98, Praha, Sparta	04. 10. 2018
8	Václavské nám. 812/59, Praha, Muzeum	23. 10. 2018
9	Na Pankráci, Praha, Arkády Pankrác	23. 10. 2018
10	Budějovické nám., Praha, Budějovická	23. 10. 2018
11	Roztylská 2321/19, Praha, Centrum Chodov	23. 10. 2018
12	Vysočanská 20/382, Praha, Billa Prosek	25. 10. 2018
13	Veselská 663, Praha, OC Letňany	25. 10. 2018
14	Skuteckého 1395/1, Praha - Řepy	19. 10. 2018
15	Řevnická ulice 121/1, Praha, Metropole Zličín	19. 10. 2018
16	Spálená 2121/22, Praha, OC Quadrio	25. 10. 2018
17	Plzeňská 4, Praha, Anděl	19. 10. 2018
18	Plzeňská 8, Praha, OC Nový Smíchov	19. 10. 2018
19	Praha, Vodičkova 15	23. 09. 2019
20	Václavské náměstí 9, Praha, Václavské náměstí	23. 09. 2019

Tabulka 2: Výsledky stanovení masa ve vzorcích mraženého hamburgeru McRoyal 4:1 a Hamburger 10:1

Parametr	mražený Burger	mražený McRoyal	Nejistota měření
4-hydroxyprolin [%]	0,357	0,363	14 %
Celkové bílkoviny [%]	18,1	18	6 %
Kolagen [%]	2,85	2,91	14 %
Obsah masa [g/100 g]	101*	99	10 %
Popel [%]	0,84	0,80	3 %
Tuk po hydrolyze [%]	18,3	20,2	5 %
Vlhkost [%]	61,7	60,9	3 %

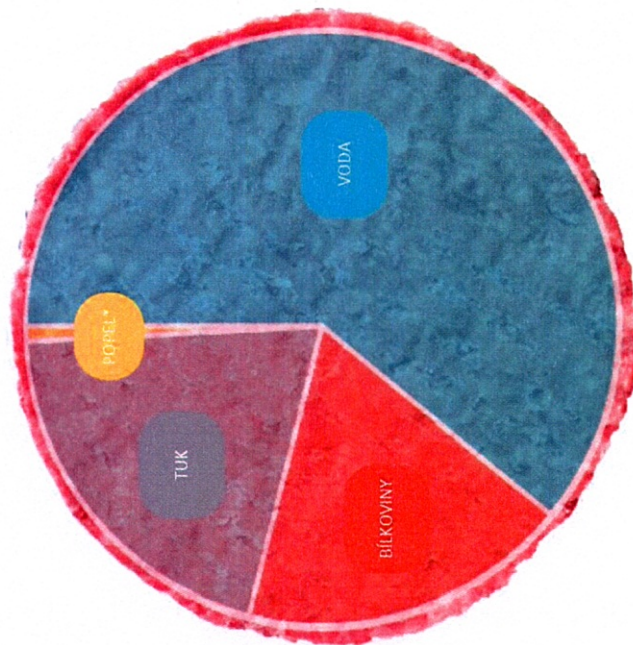
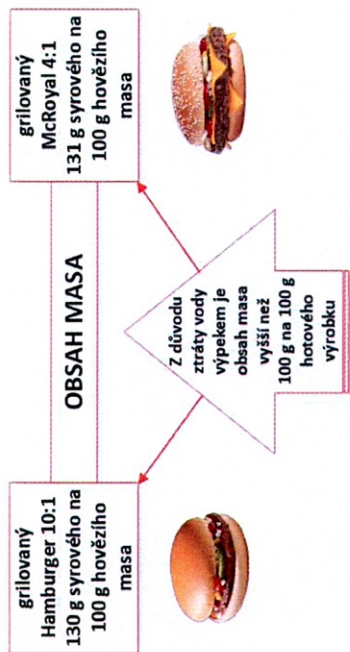
* Odchylky v řádu jednotek procent jsou způsobené nejistotou měření jednotlivých parametrů a mírným kolísáním přirozeného obsahu živin v hovězím masu. Výsledek proto může přesahovat i hodnoty 100 %.

Tabulka 3: Výsledky stanovení masa v McRoyal 4:1

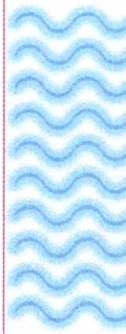
Grilovaný McRoyal 4:1									
Parametr	4-hydroxyprolin	Celkové bílkoviny	Kolagen	Obsah masa	Popel	Tuk po hydrolyze	Vlhkost		
Nejistota měření	14%	6%	14%	10%	3%	5%	3%		
1	0,4	24,9	3,3	128	1,1	19,3	54,4		
2	0,4	24,9	3,5	128	1,1	18,8	55,2		
3	0,4	26,3	3,3	135	1,1	19,7	52,7		
4	0,4	25,2	3,1	129	1,2	18,2	55,7		
5	0,4	28,4	3,4	142	1,1	17,7	53,0		
6	0,5	25,2	3,7	130	1,1	19,3	54,3		
7	0,4	22,0	3,3	115	1,2	18,8	57,8		
8	0,4	25,6	3,5	129	1,1	16,3	57,3		
9	0,4	27,4	3,5	139	1,2	19,0	52,4		
10	0,4	26,5	3,4	137	1,1	20,6	52,1		
11	0,5	25,3	3,9	129	1,1	17,5	56,6		
12	0,5	25,3	3,8	130	1,1	19,2	54,6		
13	0,5	24,7	3,6	128	1,1	19,4	54,7		
14	0,4	26,7	3,5	136	1,4	19,4	51,8		
15	0,4	25,0	3,4	130	1,1	20,0	54,4		
16	0,4	24,9	3,4	130	1,0	20,7	53,1		
17	0,5	25,8	4,0	131	1,3	17,9	54,3		
18	0,5	25,7	3,7	130	1,2	16,8	56,9		
19	0,4	24,5	3,4	126	1,0	18,8	55,5		
20	0,5	24,7	3,6	127	1,0	18,2	56,1		

Tabulka 4: Výsledky stanovení masa v Hamburgeru 10:1

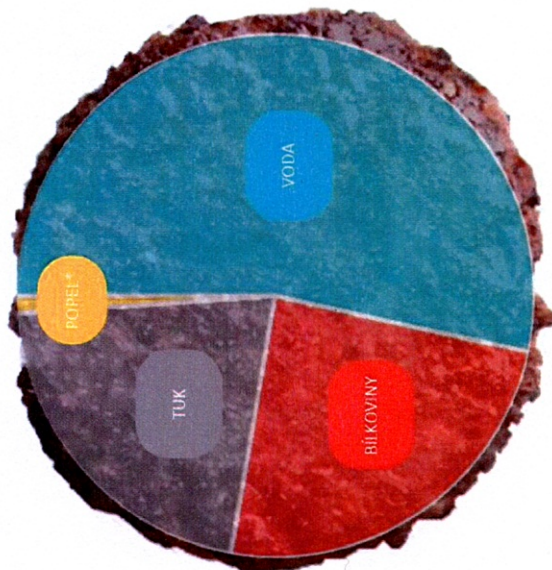
Grilovaný Hamburger 10:1									
Parametr	4-hydroxyprolin	Celkové bílkoviny	Kolagen	Obsah masa	Popel	Tuk po hydrolyze	Vlhkost		
Nejistota měření	14%	6%	14%	10%	3%	5%	3%		
1	0,5	25,6	3,9	135	1,0	23,3	49,7		
2	0,5	25,8	4,4	133	1,0	20,3	52,6		
3	0,5	24,4	4,2	126	1,1	18,5	56,1		
4	0,5	26,3	3,7	134	1,1	18,8	54,1		
5	0,5	24,4	4,0	123	1,1	16,3	58,0		
6	0,5	24,6	4,0	125	1,0	17,5	56,9		
7	0,6	27,8	4,9	140	1,2	18,4	52,4		
8	0,6	28,0	4,5	141	1,1	18,6	52,2		
9	0,5	27,9	4,0	142	1,1	19,6	51,7		
10	0,5	26,3	3,9	136	1,0	21,0	51,3		
11	0,5	26,5	4,0	135	1,1	19,1	52,9		
12	0,5	26,0	4,0	131	1,2	16,7	56,1		
13	0,4	23,3	3,1	121	1,1	19,1	56,3		
14	0,4	24,3	3,5	124	1,0	17,2	15,2		
15	0,4	25,1	3,5	128	1,0	18,3	55,6		
16	0,4	24,4	3,0	124	1,0	17,1	57,8		
17	0,4	25,0	3,6	126	1,1	16,8	56,9		
18	0,4	22,3	3,2	113	1,1	15,2	61,0		
19	0,5	23,4	3,9	122	1,0	19,0	56,5		
20	0,4	24,2	3,6	125	1,0	18,7	56,1		



Ztráta vody: při dodržení správného postupu při grilování dochází pouze k minimálním ztrátám šťávy výpeku a dochází k minimálním ztrátám tuku a rozpustných bílkovin



GRILOVÁNÍ: denaturace bílkovin, ztráty šťávy výpeku (voda, tuk, rozpustné bílkoviny). Dojde ke zmenšení hmotnosti výrobku z důvodu ztráty vody



*Popel se rozumí minerálními látky přirozeně přítomné v maso

Obrázek 1: Ztráty vody při grilování

Závěr

V odebraných vzorcích mražených a grilovaných hamburgerů byl z naměřených hodnot bílkovin, tuku, vody, 4-hydroxyprolinu a popela vypočten obsah masa. V syrových hamburgerech byl stanoven 100% podíl masa a nebyl tudíž zjištěn přídavek vody nebo jiných složek, které by mohly být použity jako náhrada masa. Bylo potvrzeno, že při grilování odebraných vzorků mas (McRoyal 4:1 a Hamburger 10:1) dochází k ztrátě vody, v důsledku čehož se snižuje celková hmotnost jednotlivých kusů. V grilovaných hamburgerech se proto zvyšuje podíl svalových tkání a množství masa nutné pro výrobu 100 g tepelně opracovaného hamburgeru tak odpovídá v průměru 130 g syrového masa. Tepelné opracování je provedeno způsobem, díky kterému dochází především ke ztrátě vody a nikoliv bílkovin nebo tuků.

Princip průkazu původu masa

Molekulárně-biologické metody založené na detekci deoxyribonukleové kyseliny (DNA) patří vzhledem ke své vysoké citlivosti a specifitě mezi techniky používané při analýze složek potravin. DNA je univerzální molekula přítomná ve většině buněk živočišného organismu, analýzy vzorků různých živočišných druhů i tkání lze tedy provádět za stejných podmínek. DNA je termostabilnější než proteiny, analýzy nukleových kyselin mohou být tudíž použity i pro rozbor vysoce tepelně opracovaných masných výrobků. Při analýze složek potravin bývá často používána polymerázová řetězová reakce PCR (angl. Polymerase chain reactin), která je v současné době prověřenou, rychlou a citlivou umožňující sériové analýzy vzorků nukleových kyselin a je používána i k autentizaci masa hovězího, vepřového, koňského, jehněčího, kuřecího, krůtího, kachního, ovčího, kozího, rybího, jeleního atd.

Ve většině živočišných buněk se DNA vyskytuje v jádře a v mitochondriích, výjimkou jsou například zralé savčí červené krvinky. Živočišné buňky mívají zpravidla jedno jádro a mnoho mitochondrií. Jaderná DNA je uvnitř eukaryotického buněčného jádra, je lineární a obsahuje introny. Mitochondriální DNA (mtDNA) se vyskytuje v mitochondriích buněk, je to krátká kruhová molekula bez intronů, např. lidská jaderná DNA je více než 180000krát delší než lidská mtDNA. MtDNA je přenášena po mateřské linii, jednotlivci mají tedy obvykle jen jednu alelu, a proto je možné vyhnout se sekvenčním nejasnostem u heterozygotních genotypů. Relativně vysoká míra mutací ve srovnání s jadernou DNA vede k akumulaci dostatečného množství bodových změn, díky kterým lze rozlišit i blízké příbuzné druhy. Počet molekul mtDNA v jednotlivých buňkách ani tkáních není konstantní, mění se během vývoje organismu.

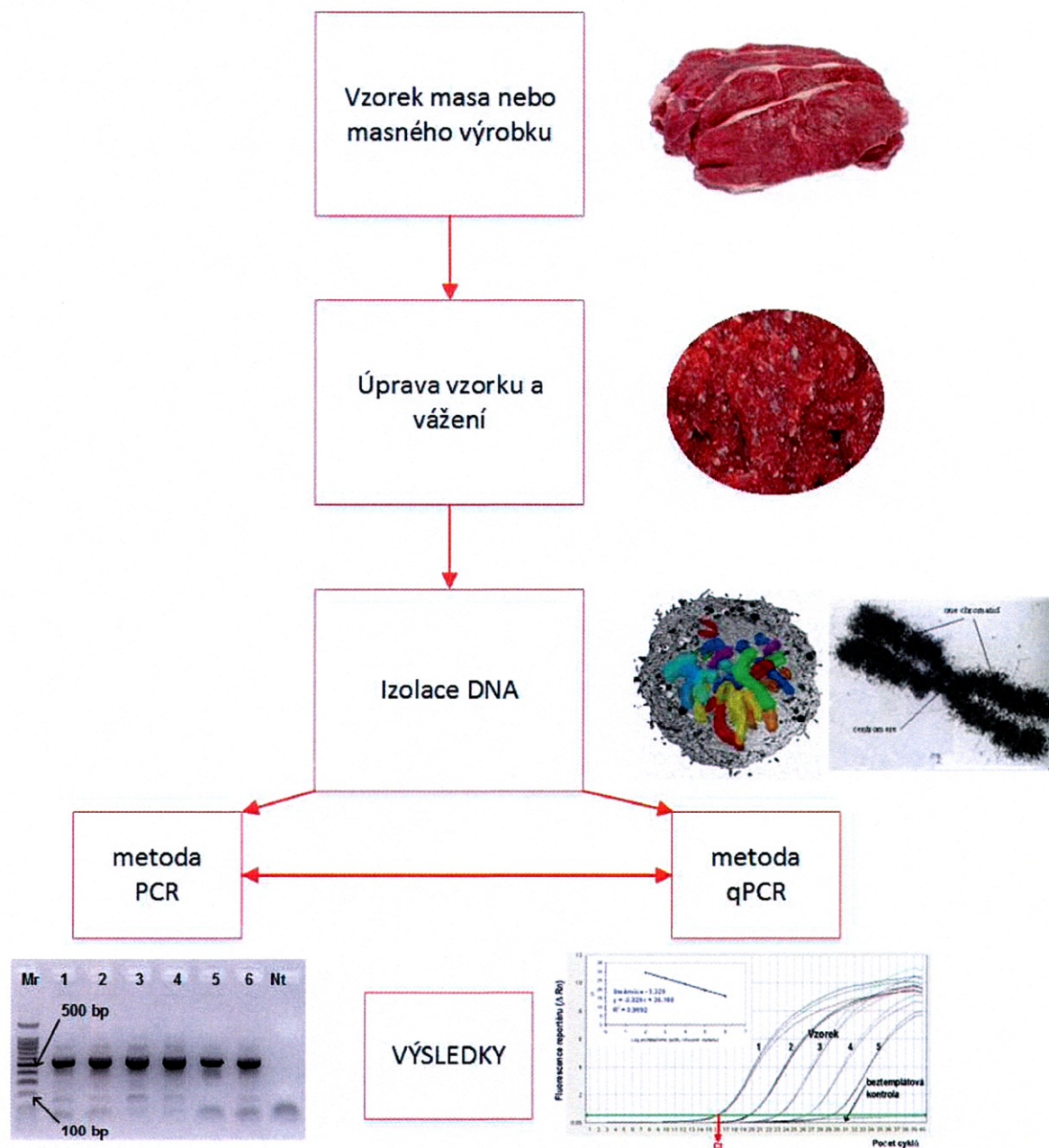
K přípravě masných výrobků se vedle svaloviny používají i jiné části zvířete, jako tuková tkáň, kůže, šlachy a jedlé droby jako jsou játra, srdce, ledviny atd. V závislosti od druhu tkání se liší počet buněk na hmotnostní jednotku tkáně, a tím i množství DNA. Největší množství DNA lze izolovat z vnitřních orgánů. Použití různých typů tkání při přípravě masných výrobků ovlivňuje kvantitativní stanovení podílu jednotlivých druhů masa v něm, autentizace jednotlivých složek je však spolehlivá bez ohledu na původ analyzované tkáně. Jednotlivé druhy masa z jednoho živočišného druhu jako např. přední nebo zadní maso analýzou DNA nelze rozlišit, protože DNA je stejná ve všech buňkách analyzovaného organismu.

Metoda PCR umožňuje enzymatickou amplifikaci vybrané sekvence DNA v cyklické reakci o třech teplotních fázích. První fáze probíhá při teplotách vyšších než 90 °C a dochází

k denuraci templátu, kterým je nejčastěji dvoušroubovicová DNA. Následuje snížení teploty na 50 – 65 °C, což umožní nasednutí syntetických oligonukleotidů (primery). Primery jsou prodlužovány enzymem DNA-polymerázou, nejčastěji při 72 °C. Tyto tři teplotně odlišené cykly se střídají, počet střídání je zpravidla 35 až 50, reakce probíhá většinou do 3 hodin. Ve zkumavce obsahující reakční směs a vzorek nukleové kyseliny dochází k syntéze mnoha kopií úseku definovaného primery, které tvoří hlavní produkt reakce. Reakce probíhá v termocykleru měnícím teplotu v požadovaných intervalech. K separaci, purifikaci a identifikaci stejně dlouhých úseků DNA, tzv. ampliconů, je nejčastěji používána elektroforéza v agarózovém nebo polyakrylamidovém gelu rozdělujícím amplicony na základě jejich délky. Tradiční PCR s jedním párem primerů umožňuje analýzu jedné sekvence, přidání násobného množství párů primerů do reakční směsi umožňuje analýzu více parametrů v jedné mikrozkuhavce, např. simultánní autentizaci hovězího, vepřového, kuřecího a koňského masa. Tato modifikace je nazývána multiplexní (mnohonásobná) PCR (angl. multiplex PCR).

PCR s fluorescenční detekcí v reálném čase (qPCR) dovoluje monitoring reakce v jejím průběhu, tzn. v jednotlivých teplotních cyklech. Toho je docíleno přidáním fluoroforu do reakční směsi, nejčastěji bývají používány fluorescenčně značené syntetické oligonukleotidy komplementární k interní části amplifikovaného úseku (sonda). Při qPCR je tedy amplifikace kombinována s emisí fluorescentního signálu. Přístroj generuje graf závislosti hodnoty fluorescence na pořadí teplotního cyklu, který může být použit pro kvalitativní i kvantitativní analýzy. V průběhu PCR vzrůstá množství DNA teoreticky exponenciálně, při každém dalším teplotním cyklu tedy dochází k zdvojnásobení množství DNA. Znalost počtu proběhlých cyklů reakce a množství ampliconů v jednotlivých cyklech, úměrné naměřené hodnotě fluorescence, umožňuje vypočítat počáteční množství DNA ve vzorku.

Analýza DNA v potravinách pomocí PCR je komplexním víceparametrovým postupem, který je nejčastěji složen z těchto navazujících kroků: odběr a příprava vzorku; homogenizace a vážení laboratorního vzorku; izolace DNA, odhad kvality a kvantity DNA, ředění na požadovanou koncentraci; PCR a/nebo qPCR a vyhodnocení získaných výsledků (Obrázek 2).



Obrázek 2: Metodika PCR pro autentikaci původu masa a masných výrobků

Analýza byla provedena v akreditované laboratoři ZL ÚBM 1316.3 certifikovanou zkouškou: Zdeňková K., Demnerová K., Akhatova D., Fialová E., Krupa O., Kubica L., Lencová S.: Využití polymerázové řetězové reakce pro autentizaci hovězího, vepřového, kuřecího a koňského masa, Praha, červenec 2017. ISBN 978-80-7592-005-8. Cílové úseky amplifikace jsou shrnuty v Tabulka 5.

Tabulka 5: Přehled cílových úseků použitých pro autentizaci hovězího, vepřového, kuřecího a koňského masa PCR technikou

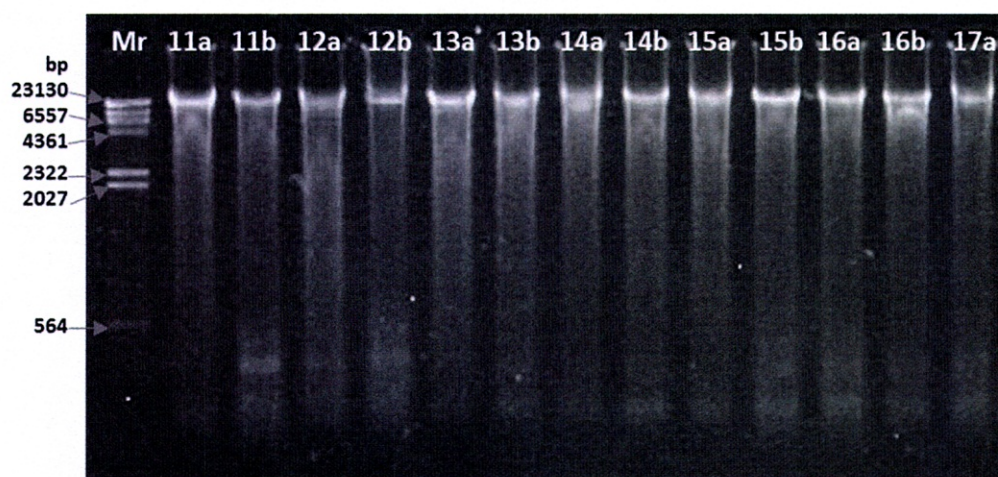
Živočišný druh	Amplifikovaný úsek	Specifikace
Kur domácí (<i>Gallus gallus f. domestica</i>) a Krocán domácí (<i>Meleagris gallopavo f. domestica</i>)	cytochrom b (mtDNA)	mPCR; 169 bp
Tur domácí (<i>Bos primigenius f. taurus</i>)	cytochrom b (mtDNA)	mPCR; 274 bp
Prase domácí (<i>Sus scrofa domesticus</i>)	cytochrom b (mtDNA)	mPCR; 398 bp
Kůň domácí (<i>Equus ferus caballus</i>)	cytochrom b (mtDNA)	mPCR; 439 bp
Tur domácí (<i>Bos primigenius f. taurus</i>)	cGMP fosfodiesterasa (gDNA)	mqPCR; značení 5' TexasRed a 3' BHQ-2; 104 bp
Prase domácí (<i>Sus scrofa domesticus</i>)	beta-aktin (gDNA)	mqPCR; značení 5' HEX a 3' BHQ-1; 107 bp
Kur domácí (<i>Gallus gallus f. domestica</i>)	interleukin 2 (IL-2, gDNA)	mqPCR; značení 5' TAMRA a 3' BHQ-2; 135 bp
Savci a drůbež	Myostatin (gDNA)	mqPCR; značení 5' FAM a 3' BHQ-1; 97 bp

Pozn.: mtDNA: mitochondriální DNA; gDNA: genomová (chromozomální) DNA; mPCR: multiplexní PCR; mqPCR: multiplexní PCR s fluorescenční detekcí v reálném čase.

Mez detekce byla stanovena výpočtem z 10 technických replikátů (95 %), jak je popsáno v ověření testů analytických metod pro geneticky modifikované organismy. Detekční limity kvadruplex PCR byly 0,01 ng kuřete, 0,01 ng hovězího masa, 0,05 ng koně a 0,03 ng vepřové DNA. qPCR umožnilo detekci 30 kopií genomu haploidního prasete, 26 kopií genomu haploidního skotu a ≥ 11 kopií haploidního genomu kuřete ve vzorku.

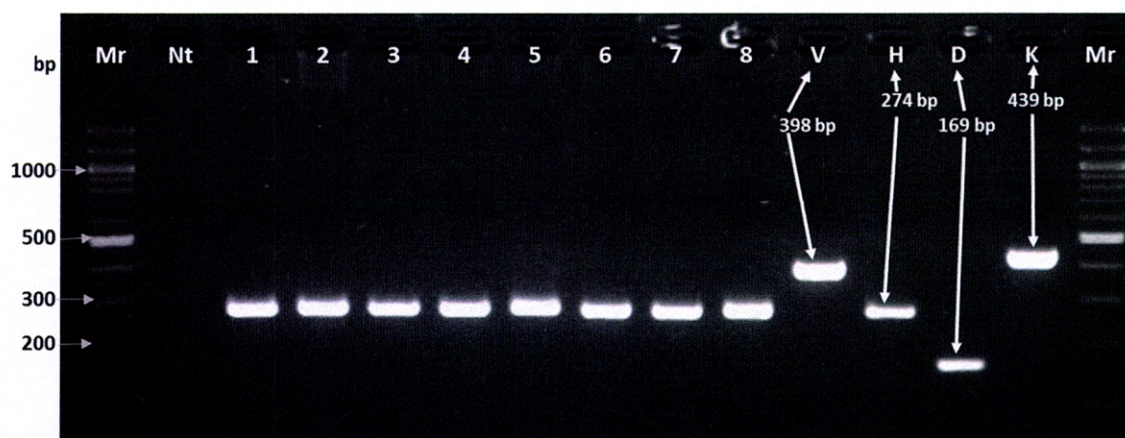
Homogenizace vzorků hamburgerů byla provedena v mlýnku IKA A 10 (WERKE, DEU). Naváženo bylo 200 mg homogenizovaného vzorku, z tohoto množství byla provedena izolace DNA metodou používající detergent CTAB. Po izolaci DNA byla její kvalita a kvantita změřena spektrofotometricky a prostřednictvím horizontální agaróзовé elektroforózy, ukázka výsledků je uvedena na Obrázek 3. Poté byla izolované DNA zředěna na požadovanou koncentraci prostřednictvím vody zbavené nukleas. S takto připravenými vzorky byly provedeny PCR a qPCR. Prostřednictvím PCR byly amplifikovány úseky mitochondriální DNA čtyř hospodářsky

významných druhů zvířat a to skotu, prasete, koně a drůbeže (kuře a krocan), ukázka získaných výsledků je uvedena na Obrázek 4. Prostřednictvím qPCR byla amplifikovány úseky jaderné DNA specifické pro tři hospodářsky významná zvířata a to skot, prase a kur domácí. Mimo tyto úseky byl amplifikován rovněž úsek kódující myostatin, který je univerzální referenční sekvencí pro amplifikaci DNA savců a drůbeže, ukázka získaných výsledků je uvedena na Obrázek 5. Přehled získaných výsledků PCR mitochondriální DNA je uveden na Obrázek 6, výsledků qPCR jaderné DNA pak na Obrázek 5.

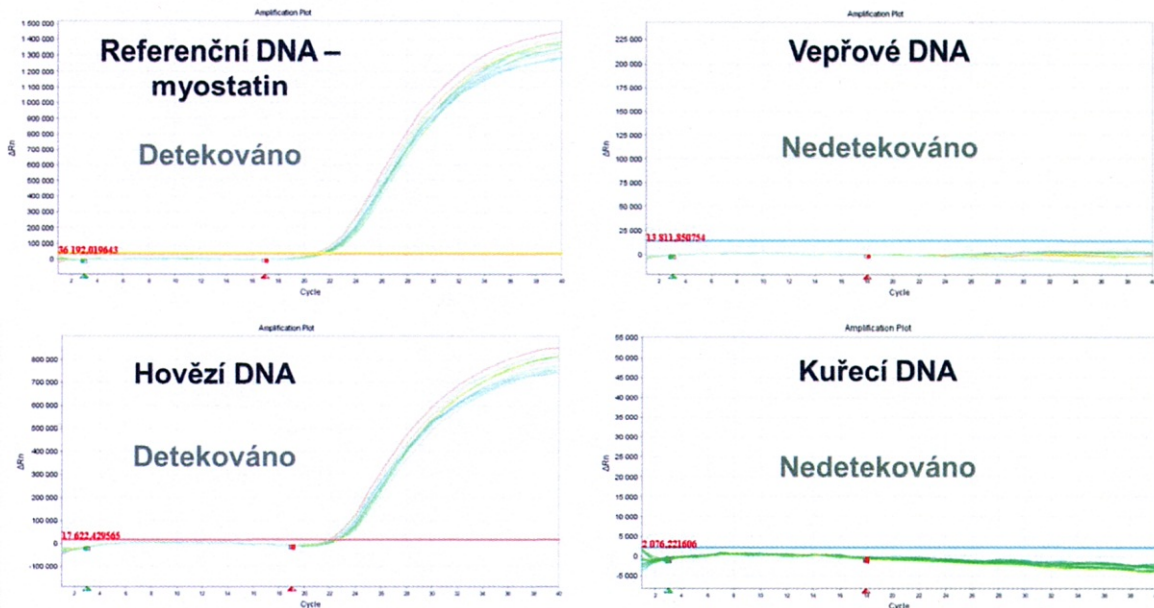


Obrázek 3: Elektroforeogram izolované DNA v 1% agarózovém gelu, 90 V, 90 minut. Dráhy:

Mr = marker Lambda/HindIII, 11a až 17a vzorky



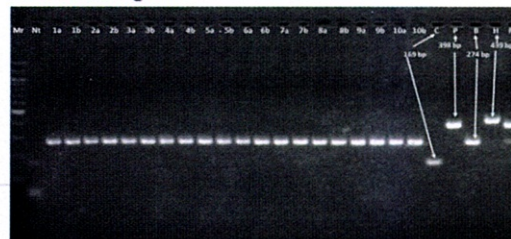
Obrázek 4: Ukázka výsledků PCR analýzy. Dráhy: M = marker (100 bp), Nt = beztemplátová kontrola, 1 až 8 = různé vzorky, pozitivní kontroly V: vepřová DNA, H: hovězí DNA, D: kuřecí DNA a K: koňská DNA



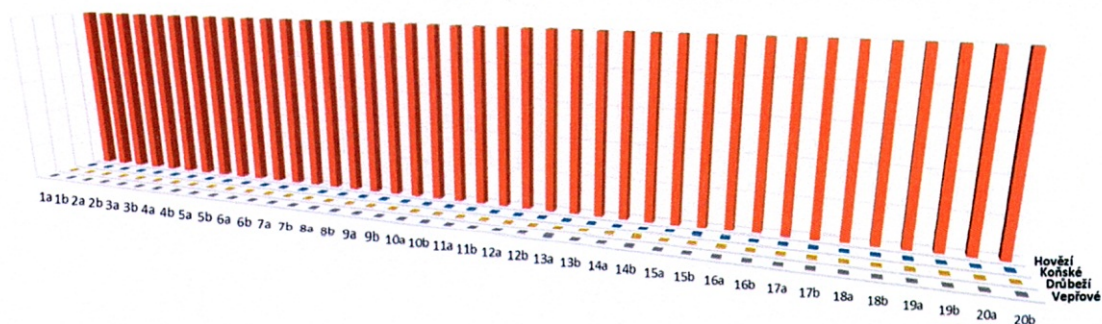
Obrázek 5: Ukázka výsledků qPCR analyzované softwarem v2.0.6

Výsledky PCR mitochondriální DNA

Elektroforeogram

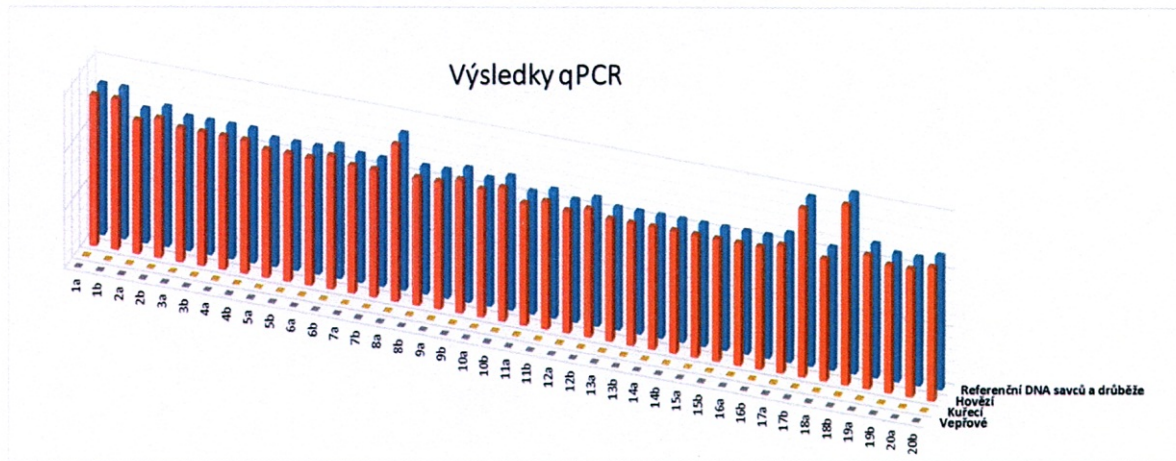


Výsledky PCR



Obrázek 6: Shrnutí výsledků vzorků analyzovaných prostřednictvím PCR, termocyklér T Gradient (Whatman Biometra, DEU). Vzorek a je McRoyal 4:1 a vzorek b je Hamburger

10:1.



Obrázek 7: Shrnutí výsledků vzorků analyzovaných prostřednictvím qPCR, Termocyklér s fluorescenčním detektorem ABI 7500 (Applied Biosystems, USA), vyhodnoceno softwarem v2.0.6. Vzorek a je McRoyal 4:1 a vzorek b je Hamburger 10:1.

Závěr: Prostřednictvím analýz mitochondriální i jaderné DNA bylo ve všech analyzovaných vzorcích prokázáno DNA hovězí, žádné jiné druhy masa (koňské, vepřové, drůbeží) nebyly detekovány.

Literatura

- 1) Akhatova D., Z. K., Koncosova M., Demnerova K. (2018). "Aktuální metody používané pro odhalení falšování masa a masných výrobků." *Chemické listy* 112(4): 205-292.
- 2) Zdeňková K., A. D., Sýkorová H. a Demnerová K. (2016). "Autentizace masa pomocí analýzy DNA." *Maso* 2016(6) 6: 37-40.
- 3) Zdeňková, K. A., D. – Fialová, E. – Krupa, O. – Kubica, L. – Lencová, S. – Demnerová, K. (2018). "Detection of meat adulteration: Use of efficient and routine-suited multiplex polymerase chain reaction-based methods for species authentication and quantification in meat products." *Journal of Food and Nutrition Research* 57(4): 351-362.
- 4) Houghs, L. – Gatto, F. – Goerlich, O. – Grohmann, L. – Lieske, K. – Mazzara, M. – Narendja, F. – Ovesná, J. – Papazova, N. – Scholtens, I. – Žel, J.: Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods : Guidance document from the European Network of GMO Laboratories, version 2 - Study. Luxembourg : Publications Office of the European Union, 2017. ISBN: 978-92-79-77310-5 (online), 978-92-79-77311-2 (print). DOI: 10.2760/645114, 10.2760/830903
- 5) Zdeňková K., Demnerová K., Akhatova D., Fialová E., Krupa O., Kubica L., Lencová S.: VYUŽITÍ POLYMERÁZOVÉ ŘETĚZOVÉ REAKCE PRO AUTENTIZACI HOVĚZÍHO, VEPŘOVÉHO, KUŘECÍHO A KOŇSKÉHO MASA, Praha, červenec 2017. ISBN 978-80-7592-005-8.
- 6) Lawrie R.A., Ledward D.A.: *Lawrie's Meat Science*, seventh ed., Woodhead Publishing, 2006
- 7) Velíšek J., Hajšlová J.: *Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd.* Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6. Kadlec P., Melzoch K., Voldřich M. et al.: *Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin.* Ostrava: Key Publishing, 2009. Print. Monografie
- 8) Correction for 'Meat and poultry nitrogen factors', Analytical Methods Committee AMCTB No 63, *Anal. Methods*, 2014, 6, 4493–4495