VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE

Chitosan: antimikrobiální potenciál a moderní metody jeho analýzy

Eva Šviráková
Roman Bleha & František Kvasnička

Seminář Aktuální problematika potravin 2026, VŠCHT Praha, 20.01.2026

Základní charakteristika chitosanu

Chitosan

Charakter: přírodní lineární polysacharid

Složení: glukosamin a N-acetyl-glukosamin spojené β-(1-4) D-glykosidovou vazbou (Piotrowska-kirschling a Brzeska, 2020)

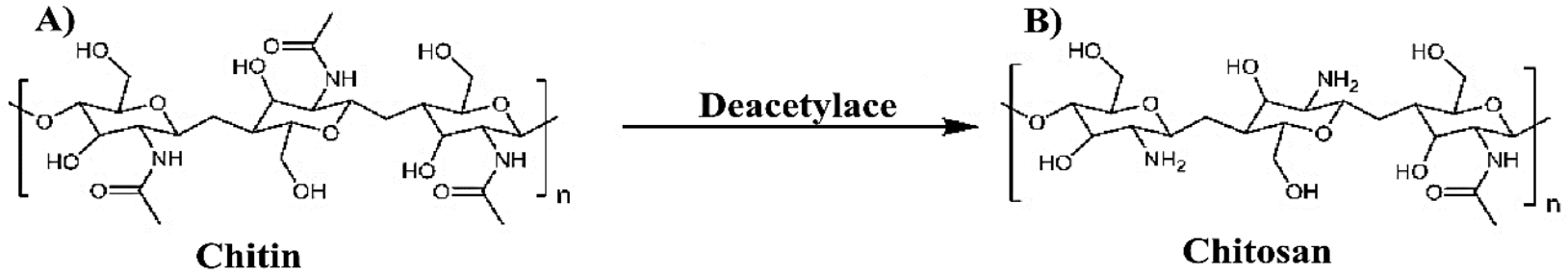


Obr. 1: Korýši
https://allergyfacts.org.au/allergy/crustacean/

Přírodní zdroje chitinu

Exoskelety korýšů, mořské plody (Jha a Mayanovic, 2023)
Šupiny ryb (Molina-Ramírez a kol., 2021)
Mycelia některých plísní: *Aspergillus niger* (Abdel-Gawad a kol., 2017), *Mucor rouxie* (Azlan a kol., 2020)

Výroba chitosanu: deacetylace chitinu



Obr. 2: Deacetylace chitinu (upraveno) (Zang a kol., 2022)
https://www.mdpi.com/2073-4360/14/5/958

Antimikrobiální účinky (Matica a kol., 2019)

Antibakteriální (Ardean a kol., 2021), antifungální (Poznanski a kol., 2023), antivirotické (Tan a kol., 2022)

Využití chitosanu
Legislativní předpisy

Potravinářství

Ochrana potravin: mikrobiální bezpečnosti, prodloužení trvanlivosti (Fernando a kol., 2024)

Čiření nápojů: ovocné džusy, vína, piva (Rocha a kol., 2017)

Obalové materiály: nástřik, máčení, inteligentní fólie s chitosanem (Barik a kol., 2024)

Doplněk stravy na podporu hubnutí: ve střevě váže tuky a cholesterol, snižuje jejich vstřebávání (Moraru a kol., 2018)

Senzorické omezení: možné zhoršení senzorických vlastností nápojů/potravin (hořká/svíravá chuť) (Knorr, 2025)

Legislativa

Prováděcí Nařízení Komise EU 2017/2470

Chitosan schválen jako nová potravina
pro využití v doplňcích stravy dle směrnice 2002/46/ES
Označování: „extrakt z *Agaricus bisporus*“ nebo „extrakt z *Aspergillus niger*“

Nařízení Komise EU 432/2012

Zdravotní tvrzení: *„Chitosan přispívá k udržení normální hladiny cholesterolu v krvi“.*
Tvrzení smí být použito pouze u potravin, které poskytují přívod 3 g chitosanu/den.

Zdravotnictví: hojení ran: obvazy, hydrogely, hemostatické materiály (Mou a kol., 2021)
Zemědělství: podpora růstu a ochrana rostlin před škůdci (Bertrand a kol., 2024)

Cíle studie

V potravinových doplňcích s chitosanem od různých výrobců zakoupených na trhu České republiky analyzovat chitosan s využitím vhodných analytických metod:

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

(FTIR spektroskopie)

•

Gravimetrická analýza

•

Kapilární izotachoforéza

(metoda cITP)

s konduktometrickou detekcí

•

Kapilární izotachoforéza spojená s kapilární zónovou elektroforézou

(metoda cITP–CZE)

s konduktometrickou detekcí

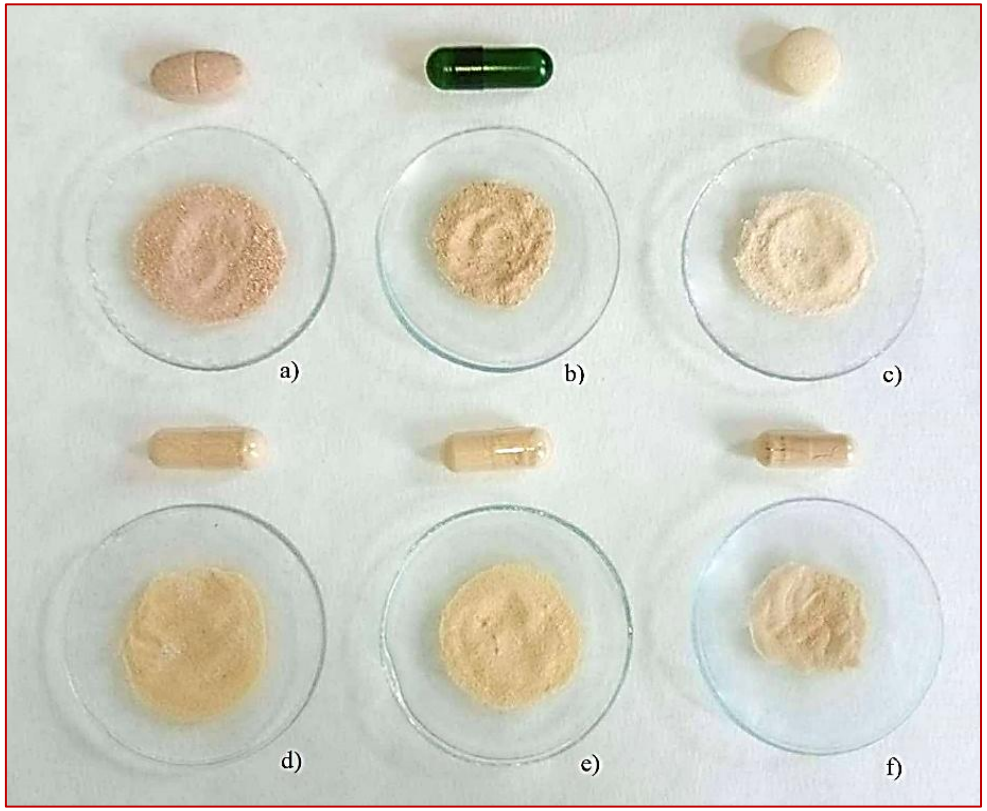
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Tabulka 1: Testované potravinové doplňky s chitosanem

Potravinový doplněk s chitosanem	Deklarovaný obsah chitosanu (mg/tabletu*/kapsli)
Preparát A	500*
Preparát B	500
Preparát C	500*
Preparát D	400
Preparát E	500
Preparát F	500

Použité standardy (vše: Sigma-Aldrich, USA)

Chitosan
Chitin
Glukosamin hydrochlorid
Kyselina L-askorbová



Obr. 3:
Testované potravinové doplňky s chitosanem (tablety i kapsle a jejich vnitřní obsahy): a) preparát A, b) preparát B, c) preparát C, d) preparát D, e) preparát E, f) preparát F

Detekce chitosanu v potravinových doplňcích
FTIR spektroskopie (kvalitativní)

Cíl detekce

Detekovat chitosan v potravinových doplňcích s využitím FTIR spektroskopie – charakterizovat absorpční pásy chitosanu

Princip metody

Identifikace látek na základě absorpce IR záření vyvolávajícího charakteristické vibrační přechody molekul

Pracovní postup (Bleha a kol., 2022)

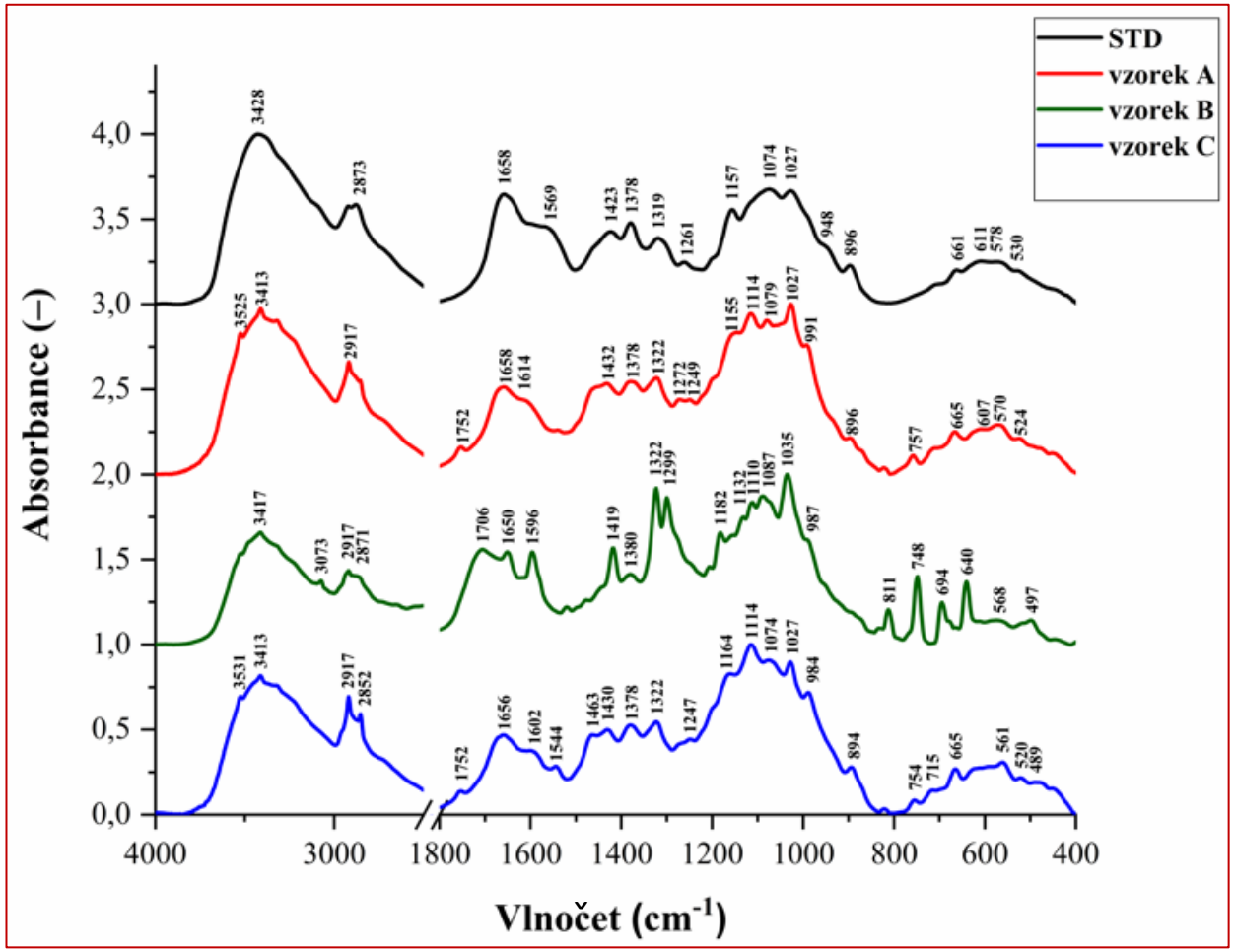
Lisování tablet: vzorek chitosanu + KBr → transmisní FTIR spektroskopie
(64 skenů, rozsah vlnočtů 4000–400 cm^{-1}, rozlišení 4 cm^{-1})
Porovnání spekter testovaných vzorků s chitosanem se standardem chitosanu



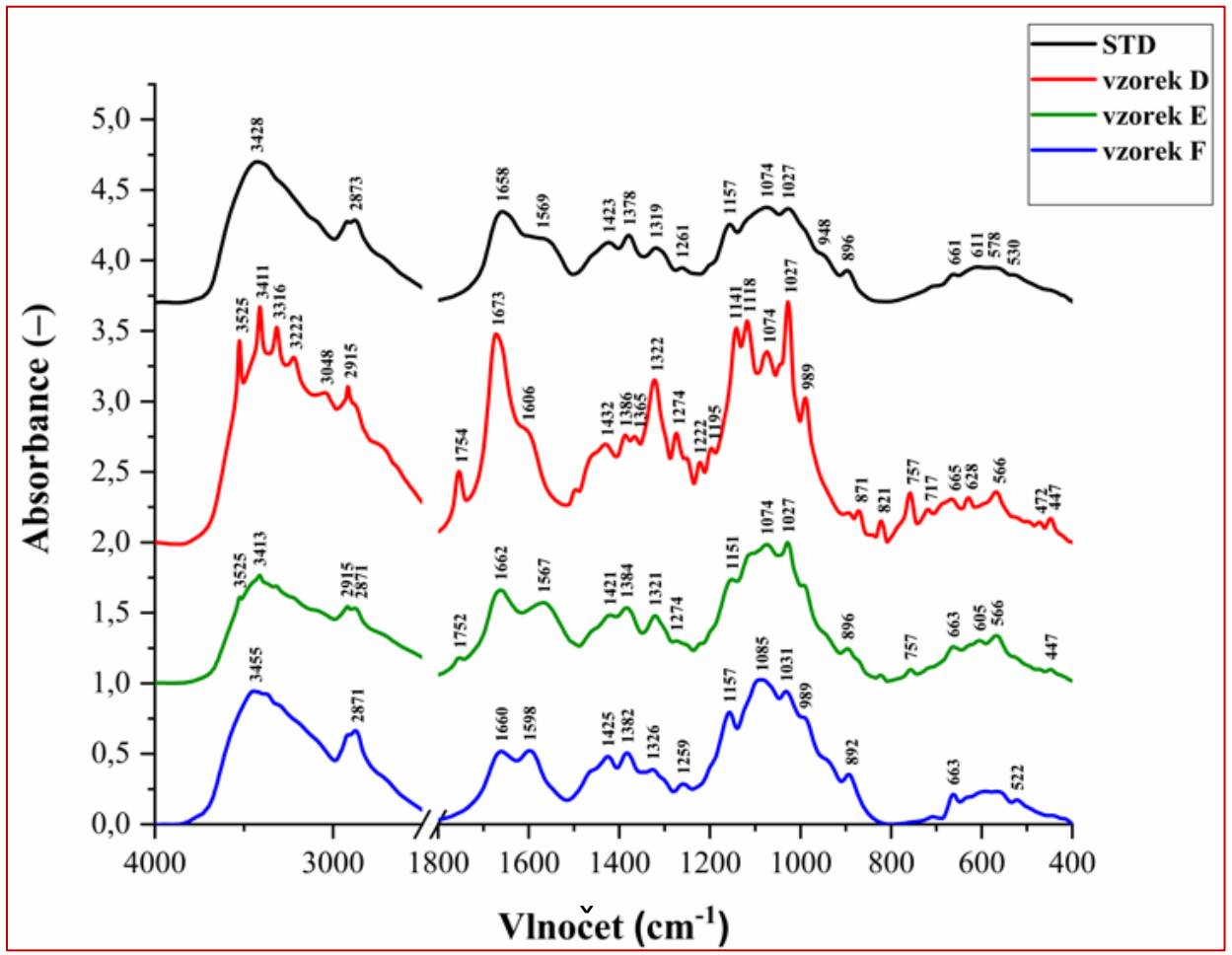
Obr. 4: Pomůcky pro přípravu KBr tablet pro následné měření na FTIR spektrometru Nicolet Si20 (Thermo Fischer Scientific, USA)

Tabulka 2: Charakteristické vlnočty a vibrace funkčních skupin standardu chitosanu a potravinových doplňků s chitosanem (preparáty A–F) zjištěné metodou FTIR spektrofotometrie

Standard chitosanu	Preparát A	Preparát B	Preparát C	Preparát D	Preparát E	Preparát F	Vibrace funkčních skupin chitosanu
Vlnočet (cm^{-1})							
3428	3413	3417	3413	3411	3413	3455	Valenční O-H a N-H
2920	2917	2917	2917	2915	2915	–	Valenční C-H
2873	2855	2871	2852	–	2871	2871	Valenční C-H
1658	1658	1650	1656	1673	1662	1660	Valenční C=O (Amid I)
1569	1539	1596	1544	–	1567	1598	Deformační N-H (Amid II)
1423	1432	1419	1430	1432	1421	1425	Valenční C-H
1378	1378	1380	1378	1386	1384	1382	Valenční C-H
1319	1322	1322	1322	1322	1321	1326	Deformační N-H (Amid III)
1261	1272	1299	1247	1274	1274	1259	Deformační O-H
1157	1155	1132	1164	1141	1151	1157	Valenční C-O-C
–	1114	1110	1114	1118	–	–	Valenční C-O-C
1074	1079	1087	1074	1074	1074	1085	Valenční C-O
1027	1027	1035	1027	1027	1027	1031	Valenční C-O-C
896	896	833	894	894	896	892	Deformační C-H



Obr. 5: Naměřená FTIR spektra standardu chitosanu (STD) a potravinových doplňků s chitosanem (preparáty A–C)



Obr. 6: Naměřená FTIR spektra standardu chitosanu (STD) a potravinových doplňků s chitosanem (preparáty D–E)

Analýza chitosanu v potravinových doplňcích
Gravimetrie (kvantitativní, neselektivní)

Cíl analýzy

Analyzovat chitosan v potravinových doplňcích (zjistit orientační množství) s využitím gravimetrické analýzy, po odstranění rozpustných složek

Princip metody (Bleha a kol., 2022)

Odstranění složek rozpustných v použitých roztocích promýváním, s následným sušením a vážením nerozpustného zbytku

Pracovní postup

Rozdrcení vzorků → promývání → sušení → vážení

Použité promývací roztoky (Bleha a kol., 2022)

1. promývání (odstranění kyseliny L-askorbové, všechny vzorky):

ethanol (96,0 obj. %) + ethanol (80,0 obj. %) + ethanol (80,0 obj. %) s kyselinou chlorovodíkovou (0,2 $mol \cdot l^{-1}$) + ethanol (80,0 obj. %) + ethanol (96,0 obj. %) + aceton (99,0 obj. %)

2. promývání (odstranění mikrokrystalické celulózy, vzorky 1 a 3):

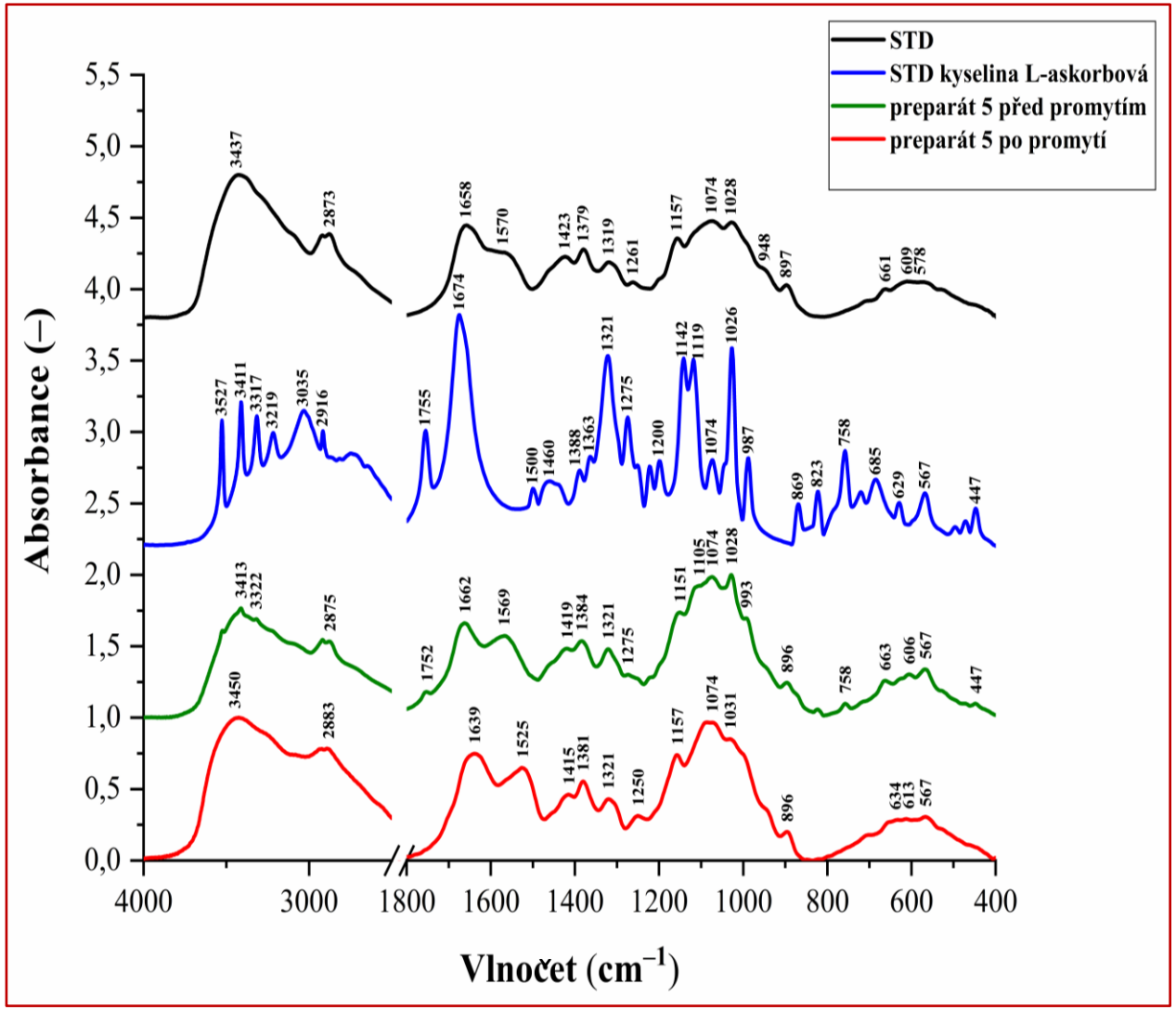
hydroxid sodný (0,1 $mol \cdot l^{-1}$) + kyselina octová + ethanol (96,0 obj. %)

Omezení metody

Neselektivita metody: nerozpustné látky zůstávají ve vzorcích → nadhodnocení hmotnosti zbytkové hmoty

Tabulka 3:
Zjištěný obsah chitosanu
v potravinových doplňcích s chitosanem
(preparáty A–F)
s využitím gravimetrické analýzy

Testovaný preparát s chitosanem	Zjištěný obsah chitosanu (mg/tabletu/ kapsli)	Deklarovaný obsah chitosanu (mg/tabletu/ kapsli)
Preparát A	352,4	500
Preparát B	681,8	500
Preparát C	532,0	500
Preparát D	655,0	400
Preparát E	495,4	500
Preparát F	525,7	500



Obr. 7:
Naměřená FTIR spektra:
standardů chitosanu a kyseliny L-askorbové,
a také potravinového doplňku s chitosanem (preparát E)
před promytím, a po promytí

Analýza chitosanu v potravinových doplňcích
Metoda cITP (kvantitativní, přímá)

Cíl analýzy

Kvantifikovat chitosan v potravinových doplňcích přímo (bez předchozí kyselé hydrolýzy) s využitím metody cITP s konduktometrickou detekcí

Princip metody (Kvasnička a kol.,2023)

Separace iontových složek na základě jejich rozdílné elektroforetické pohyblivosti při působení stejnosměrného elektrického pole

Pracovní postup

Rozpuštění vzorku v kyselině octové (1 % obj.) → elektroforetická separace → kvantifikace chitosanu pomocí kalibrační křivky standardu chitosanu (20, 50, 100 a 200 $mg \cdot l^{-1}$)

Analýza chitosanu

Elektroforetický analyzátor EA 101 (Villa Labeco, SVK):

– kolony: FEP (fluorovaný ethylen-propylen): 0,8 mm × 90 mm a 0,3 mm × 90 mm (Villa Labeco, SVK)
– detektor: vodivostní + UV

Omezení metody

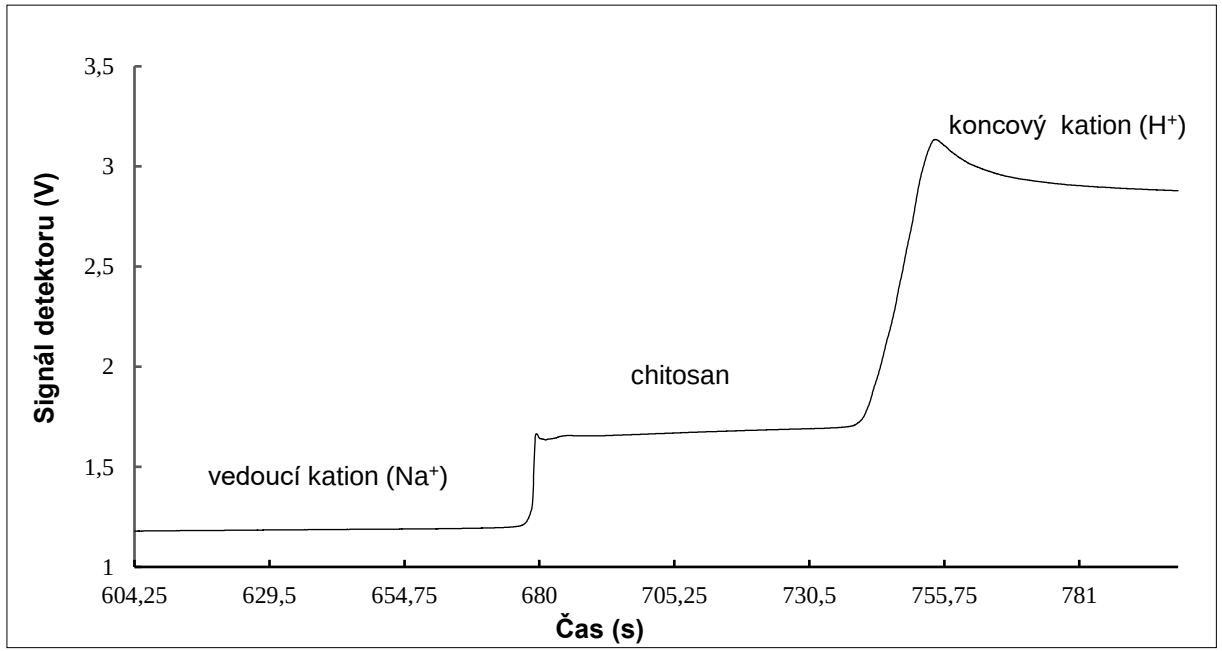
Kvalita chitosanu: stupeň deacetylace a čistota



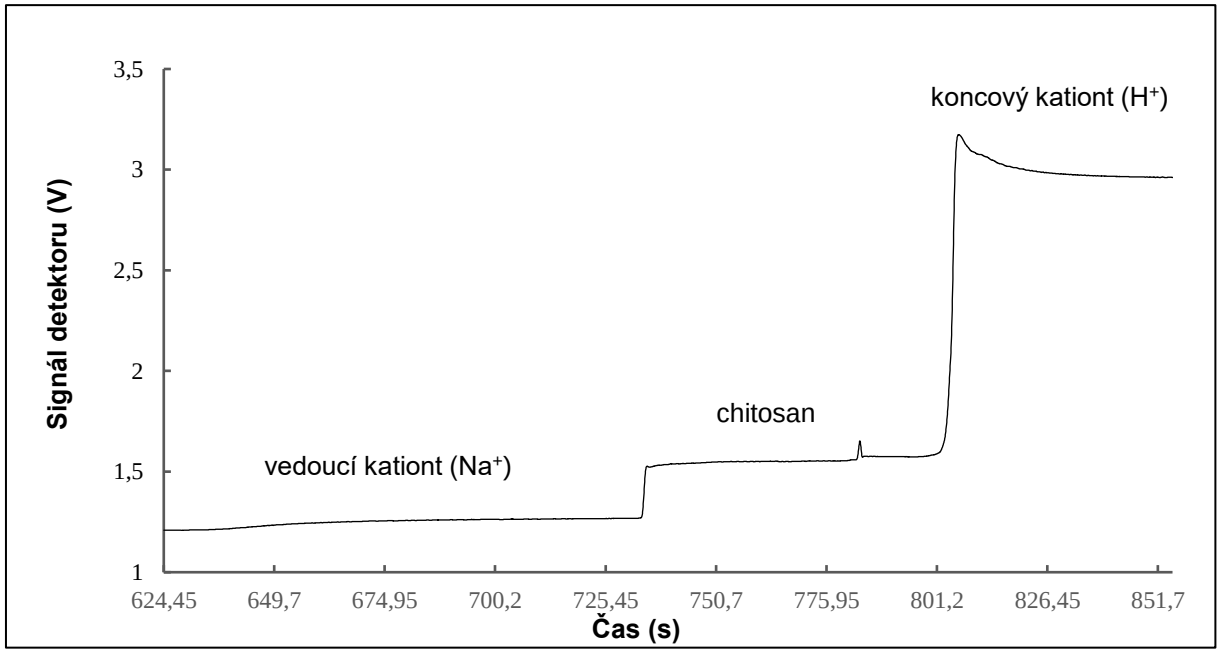
Obr. 8: Elektroforetický analyzátor EA 101 (Villa Labeco, SVK)

Tabulka 4: Zjištěný obsah chitosanu v potravinových doplňcích s chitosanem (preparáty A–F) s využitím metody cITP

Potravinový doplněk s chitosanem	Zjištěný obsah chitosanu (mg/tabletu*/kapsli)	Deklarovaný obsah chitosanu (mg/tabletu*/kapsli)
Preparát A	595*	500*
Preparát B	529	500
Preparát C	553*	500*
Preparát D	464	400
Preparát E	510	500
Preparát F	629	500



Obr. 9: Izotachoforeogram 100 mg·l^{-1} standardu chitosanu



Obr. 10: Izotachoforeogram potravinového doplňku s chitosanem (preparát E)

Analýza chitosanu v potravinových doplňcích
Metoda cITP–CZE (kvantitativní, nepřímá)

Cíl analýzy

Analyzovat chitosan v potravinových doplňcích s využitím metody cITP-CZE s konduktometrickou detekcí, po předchozí kyselé hydrolýze chitosanu (110 °C, 6 h, 6 mol·l^{-1} H_2SO_4) na glukosamin (GlcN)

Princip metody

Separace spočívá v koncentraci a předseparaci analytů pomocí kapilární izotachoforézy (cITP), následované vysoce rozlišující kapilární zónovou elektroforézou (CZE)

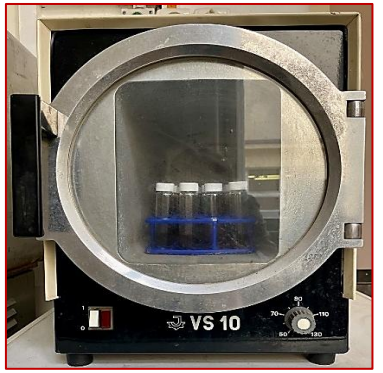
Pracovní postup

Hydrolýza → ředění hydrolyzátu → elektroforetická separace → kvantifikace GlcN pomocí kalibrační křivky GlcN·HCl
(1, 2, 5, 10 a 20 μmol·l^{-1}) → přepočet na obsah chitosanu v preparátech

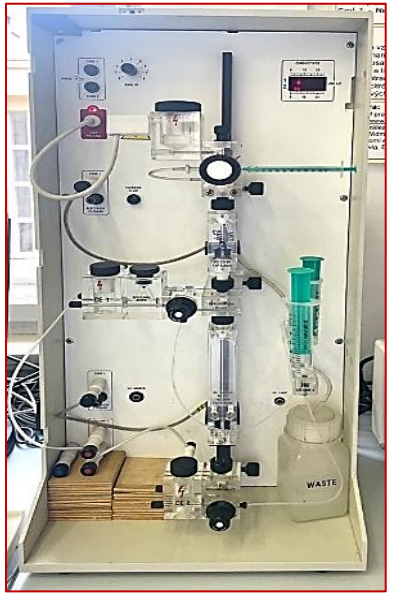
Analýza chitosanu

Elektroforetický analyzátor EA 101 (Villa Labeco, SVK):
– kolony: FEP 0,8 mm × 90 mm a 0,3 mm × 160 mm (Villa Labeco, SVK)
– detektor: vodivostní

Omezení metody (prozatímní): tč. poskytuje předběžné výsledky s nutností optimalizace kyselé hydrolýzy chitosanu



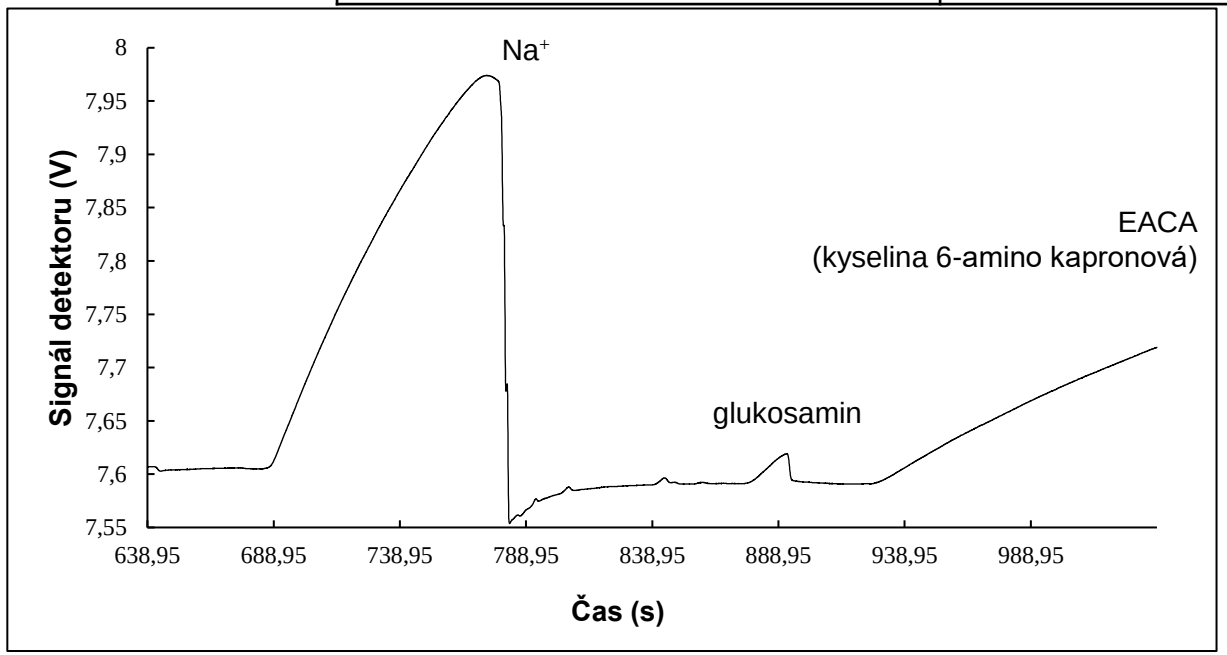
Obr. 11:
Vakuová sušárna VS 10
(Javoz, CZE)



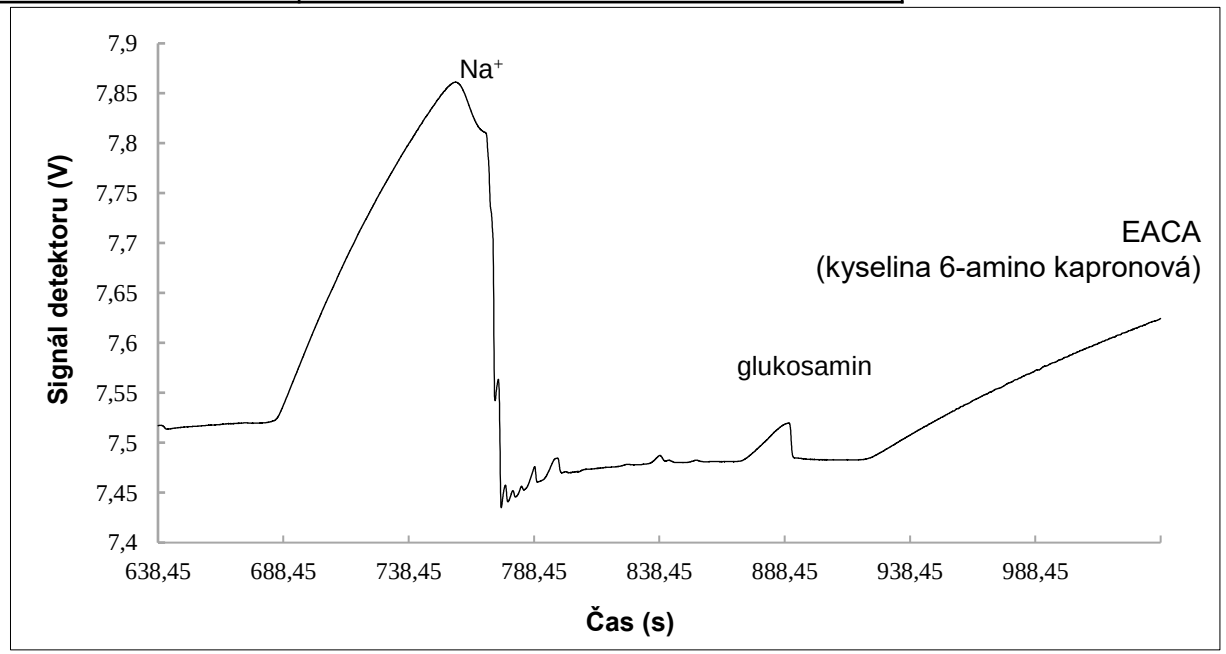
Obr. 12:
Elektroforetický analyzátor EA 101
(Villa Labeco, SVK)

Tabulka 5: Zjištěný obsah chitosanu v potravinových doplňcích s chitosanem (preparáty A–F) s využitím metody c-ITP-CZE

Potravinový doplněk s chitosanem	Zjištěný obsah chitosanu (mg/tabletu*/kapsli)	Deklarovaný obsah chitosanu (mg/tabletu/kapsli)
Preparát A	519*	500*
Preparát B	350	500
Preparát C	478*	500*
Preparát D	442	400
Preparát E	378	500
Preparát F	519	500



Obr. 13: Izotachoforeogram 10 µmol·l^{-1} standardu glukosaminu hydrochloridu



Obr. 14: Izotachoforeogram potravinového doplňku s chitosanem (preparát E)

ZÁVĚRY

U žádného z analyzovaných potravinových doplňků
s deklarovaným obsahem chitosanu nebylo zjištěno podezření
na falšování přítomnosti či množství chitosanu

●

Nejpřesnější výsledky při analýze chitosanu poskytla
metoda cITP (kapilární izotachoforéza) s konduktometrickou detekcí

●

Metoda cITP-CZE (kapilární izotachoforéza spojená s kapilární zónovou
elektroforézou) s konduktometrickou detekcí
vyžaduje optimalizaci kyselé hydrolýzy pro zvýšení přesnosti
a reprodukovatelnosti následné analýzy chitosanu

●

Analýza chitosanu v komplexních matricích, jako jsou potravinové doplňky
s chitosanem, je náročná a ovlivněná řadou faktorů,
včetně kvality použitých surovin

●

Získané výsledky mohou být využity v oblasti forenzní analýzy
k posouzení vhodnosti analytických metod
pro kontrolu přítomnosti a množství chitosanu

PLÁN BUDOUCÍCH AKTIVIT

Optimalizace podmínek kyselé hydrolýzy chitosanu
za účelem zvýšení přesnosti a reprodukovatelnosti
následné analýzy glukosaminu
(nepřímo stanoveného z chitosanu)

Optimalizace zahrnuje kombinaci 3 faktorů
(teploty, doby a koncentrace kyseliny sírové),
každý faktor testován v 5 hodnotách
(Kvasnička a kol., 2023)

-

Analýza chitosanu v potravinových doplňcích (celkem 10 preparátů)
s využitím elektroforetických metod (cITP, cITP-CZE)

-

Analýza chitosanu v potravinových doplňcích (celkem 10 preparátů)
s využitím metody HPLC – zavedení metody

LITERATURA

ABDEL-GAWAD, K. M.; HIFNEY, F. A.; FAWZY, A. M.; GOMAA, M. Technology optimization of chitosan production from *Aspergillus niger* biomass and its functional activities. *Food Hydrocolloids*, **2017**, 63, 593–601. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.001

AZLAN, N. S.; EDINUR, A. H., GHAFAR, A. N.; RASUDIN, N. S. Optimization and characterization of chitosan extracted from *Mucor rouxii*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2020**, 596(1), 012030. Dostupné z: https://doi.org/10.1088/1755-1315/596/1/012030

BAHARLOUEI, P.; RAHMAN, A. Chitin and chitosan: prospective biomedical applications in drug delivery, cancer treatment, and wound healing. *Marine Drugs*, **2022**, 20(7), 460. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/md20070460

BARIK, M.; BHAGYARAJ, G.V.S.; DASH, K.K.; SHAMS, R. A thorough evaluation of chitosan-based packaging film and coating for food product shelf-life extension. *Journal of Agriculture and Food Research*, **2024**, 16(1), 101164. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101164

BERTRAND, M; SIMONIN, S.; BACH, B. Applications of chitosan in the agri-food sector: a review. *Carbohydrate Research*, **2024**, 543, 109219. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.carres.2024.109219

BLEHA, R.; TŘEŠNÁKOVÁ, L.; SUSHYTSKYI, L.; CAPEK, P.; ČOPÍKOVÁ, J.; KLOUČEK, P.; JABLONSKÝ, I.; SYNYTSYA, A. Polysaccharides from basidiocarps of the polypore fungus ganoderma resinaceum: isolation and structure. *Polymers*. **2022**, 14(2), 255. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/polym14020255

DZIEDZIC, I.; KERTMEN, A. Methods of chitosan identification: history and trends. *Letters in Applied Nano Bio Science*, **2023**, 12(4), 94. Dostupné z: https://doi.org/10.33263/LIANBS124.094

FERNANDO, S.S.; JO, Ch.; MUDANNAYAKE, C.D.; JAYASENA, D.D. An overview of the potential application of chitosan in meat and meat products. *Carbohydrate Polymers*, **2024**, 324(1), 121477. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121477

JHA, R.; MAYANOVIC, A.R. A review of the preparation, characterization, and applications of chitosan nanoparticles in nanomedicine. *Nanomaterials,* **2023**, 13(8), 1302. Dostupné z: https://doi.org./10.3390/nano13081302

KVASNIČKA, F.; KOUŘIMSKÁ, L.; BLEHA, R.; ŠKVOROVÁ, P.; KULMA, M.; RAJCHL, A. Electrophoretic determination of chitin in insects. *Journal of Chromatography A,* **2023**, 1695, 463952. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463952

KNORR, D. Food processing of chitin and chitosan: From waste to opportunities. *Journal of Food Engineering*. 2025, **400,** 112634. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2025.112634

MATICA, M. A.; AACHMANN, F. L.; TØNDERVIK, A.; SLETTA, H.; OSTAFE, V. Chitosan as a wound dressing starting material: antimicrobial properties and mode of action. *International Journal of Molecular Sciences*, **2019**, 20(23), 5889. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/ijms20235889

MOLINA-RAMÍREZ, C.; MAZO, P.; ZULUAGA, R.; GAÑÁN, P.; ÁLVAREZ-CABALLERO, J. Characterization of chitosan extracted from fishs cales of the colombianendemic species prochilodus magdalenae as a novel source for antibacterial starch-based films. *Polymers,* **2021**, 13(13), 2079. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/polym13132079

MOU, D.; YU, Q.; ZHANG, J.; ZHOU, J.; LI, X.; ZHUANG, W.; YANG, X. Intra-articular injection of chitosan-sased supramolecular hydrogel for osteoarthritis treatment. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine,* **2021**, 18 (1), 113–125. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s13770-020-00322-z

MORARU, C.; MINCEA,M.M.; FRANDES, M.; TIMAR, B.; OSTAFE, V. A Meta-Analysis on Randomised Controlled Clinical Trials Evaluating the Effect of the Dietary Supplement Chitosan on Weight Loss, Lipid Parameters and Blood Pressure. *Medicina* [online]. 2018, 54(6), 109. Dostupné z: http://doi.org/10.3390/medicina54060109

PIOTROWSKA-KIRSCHLING, A.; BRZESKA, J. The effect of chitosan on the chemical structure, morphology, and selected properties of polyurethane/chitosan composites. *Polymers*, **2020**, 12(5), 1205. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/polym12051205

TAN, R.S.L., HASSANDARVISH, P.; CHEE, Ch.F.; CHAN, L.W.; WONG, T.W. Chitosan and its derivatives as polymeric anti-viral therapeutics and potential anti-SARS-CoV-2 nanomedicine. *Carbohydrate Polymers*, **2022**, 290, 119500. Dostupné z:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119500

REHMAN, H.U.; CORD-LANDWEHR, S.; SHAPAVAL, V.; DZURENDOVA, S.; Achim KOHLER, A.; MOERSCHBACHER, B.M.; ZIMMERMANN. B. High-through put vibrational spectroscopy methods for determination of degree of acetylation for chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, **2023**, 302, 120428. Dostupné z: https://doi/10.1016/j.carbpol.2022.120428

ROCHA, M.A.; COIMBRA, M.A.; NUNES, C. Applications of chitosan and the irderivatives in beverages: a critical review. *Current Opinion in Food Science*, **2017**, 15(1), 61–69. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.06.008

ZHANG, M.; ZHANG, F.; LI, C.; AN, H.; WAN, T.; ZHANG, P. Chitosan and itsderivativepolymers in clinicalmedicine and agriculture. *Polymers,* **2022**, 14(5), 958. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/polym14050958

Nařízení Komise (EU) č. 432/2012 ze dne 16. května 2012, kterým se zřizuje seznam schválených zdravotních tvrzení při označování potravin jiných než tvrzení o snížení rizika onemocnění a o vývoji a zdraví dětí. Text s významem pro EHP v aktuálním znění z 19.08.2024. EUR-Lex Access to European Union law.2025 [online]. Dostupné z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:02012R0432-20240819 (staženo 13.11.2025)

PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2017/2470 ze dne 20. prosince 2017, kterým se zřizuje seznam Unie pro nové potraviny v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách v znění pozdějších úprav k datu 07.11.2024. EUR-Lex Access to European Union law. **2025** [online]. Dostupné z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:02017R2470-20241107 (staženo 13.11.2025)

Obrázky: Obr. 1: https://allergyfacts.org.au/allergy/crustacean/ **Obr. 2:** https://www.mdpi.com/2073-4360/14/5/958

DĚKUJI ZA POZORNOST