národní
úložiště
šedé
literatury

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ - XXXIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.
2002

Dostupný z http://www.nusl.cz/ntk/nusl-126575

Dílo je chráněno podle autorského zákona č. 121/2000 Sb.

Licence Creative Commons Uveďte autora 3.0 Česko

Tento dokument byl stažen z Národního úložiště šedé literatury (NUŠL).

Datum stažení: 21.09.2024

Další dokumenty můžete najít prostřednictvím vyhledávacího rozhraní nusl.cz .

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

XXXIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

27. - 29.5.2002

Skalský Dvůr

Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii České společnosti chemické

Odbor potravinářské techniky a technologie ČAZV

Odbor výživy obyvatelstva a jakosti potravin ČAZV

Výzkumný ústav potravinářský Praha

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha

Ed. Holasová M., Fiedlerová V., Špicner J.
VÚPP, Praha 2002
ISBN 80-902671-5-7

SOUČASNÉ SMĚRY KONTROLNÍ ČINNOSTI Z POHLEDU ČZPI (abstrakt)

Klanica M.
Ústřední inspektorát, Česká zemědělská a potravinářská inspekce Brno, Květná 15, 603 00 Brno

Posluchači budou seznámeni velmi stručně s přehledem výsledků kontrolní činnosti za poslední období (2001 a počátek roku 2002), včetně informace o zajímavých záchytech - kontrolních zjištěních z tohoto období. Bude popsán přístup ke kontrolovaným osobám , popsání rozhodných faktorů pro provedení či zaměření kontroly, budou specifikovány hlavní cíle ČZPI v těchto souvislostech - hlavní směry kontrolní činnosti. Budou popsány souvislosti naší činnosti v kontextu kontroly potravin v ČR (stručná zmínka o mezinárodní spolupráci a vazbách na zahraničí). Bude zmíněn legislativní rámec činnosti, včetně připravovaných změn úzce se dotýkajících ČZPI a tudíž také kontrolovaných osob a v neposlední řadě spotřebitelů.

SOUČASNÉ VETERINÁRNÍ POŽADAVKY NA VÝROBU A HODNOCENÍ POTRAVIN VE VZTAHU K LEGISLATIVĚ ČR A EU (abstrakt)

Slanec E.
Státní veterinární správa ČR, Těšnov 17, 117 05 Praha 1

Příprava českého zemědělství včetně veterinární činnosti v České republice na vstup do EU probíhá minimálně 10 let nazpět. Jedná se zejména o intenzivní transformaci předpisů EU do naší národní legislativy. Při porovnání s ostatními resorty národního hospodářství legislativa zemědělství představuje jeden z nejrozsáhlejší a nejkomplikovanějších úseků. Částečná transformace veterinárních předpisů EU byla uskutečněna již v zákoně č. 87/1987 Sb., o veterinární péči a v prováděcích vyhláškách zejména na úseku ochrany zdraví zvířat a veterinární hygieny potravin. Další etapu transformace představovala novelizace tohoto zákona po roce 1989 a nový veterinární zákon č. 166/1999 Sb., a prováděcích předpisů. V současné době je zpracován novela veterinárního zákona a prováděcích vyhlášek. Návrhu této novely předcházela široká analýza všech platných předpisů EU na úseku masa (64/433/EHS), drůbeže (71/118/EHS) a výrobků z nich (77/99/ EHS), mléka (92/46/EHS), ryb (91/493/EHS) vajec (89/437/EHS), medu a dalších živočišných produktů (92/118/EHS) a vypracování srovnávacích tabulek, které se využívají k co nejtěsnějšímu přiblížení naší legislativy k předpisům EU.

Právní rámec zahrnuje otázky struktury a kompetence veterinární činnosti, prevenci a eradikaci nákaz, povinnosti chovatelů, dozor nad identifikací hospodářských zvířat, podmínky zpracování živočišných produktů, značení výrobků, značení a likvidaci SRM, zpracování vysokorizikových a nízkorizikových živočišných odpadů, vzdělávání veterinárních pracovníků, sankce za neplnění povinností vyplývajících z těchto předpisu. Pro SVS ČR je procedurálně náročný přenos rychle se měnících předpisů EU do naší legislativy. První zkoušku ohněm prošli potravinářské provozy již v roce 1999 až 2001, kdy podle předpisů EU byla provedena pasportizace závodů. Vlastní hodnocení se týkalo stavebního uspořádání, technologie výroby, dodržování teplotních režimů, osobní a provozní hygieny, zavedení HACCP a dodržování dalších podmínek výroby. Ukázalo se, že značná část závodů na plnění hygienických požadavků vyplývajících z legislativy EU není dobře připravená. SVS ČR v návaznosti na blížící se termín vstupu do EU vyhlásila trend zlepšení nebo uzavření závodů, které nevyhovují veterinárním a hygienickým požadavkům ve třech etapách a to do 30.6.2001, do 31.12. 2001 a 31.12.2002. V průběhu roku 2000 a 2001 ukončilo svoji činnost ze 17 434 celkem 1997 závodů. V nejbližším období bude SVS ČR podrobně analyzovat hodnocení závodů tak, aby po schválení novely veterinárního zákona v druhé polovině roku 2003 bylo jasné, které závody naplní svá předsevzetí a záměr provozovat činnost i v budoucnu. O tom, jak jsou české potravinářské závody připraveny na vstup do EU, provádí EK rozsáhlé inspekce zejména v závodech, které nejsou na seznamech schválených závodů pro export do zemí EU včetně těch, které jsou přihlášeny do přechodného období. Taková to inspekce se uskutečnila v období od 14. do 28. dubna 2002. Výsledek bude součástí přednášky.

V závěru bych si dovolil upozornit provozovatele potravinářských závodů ještě na problematiku značení finálních výrobků, která nás v nejbližším období čeká. Půjde zejména označení výrobků značkou zdravotní nezávadnosti případně i identifikaci hovězího masa v masných výrobcích.

SOUČASNÉ PODKLADY K HODNOCENÍ RIZIKOVÝCH LÁTEK V POTRAVINÁCH

Turek B.
Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

V poslední době se zvyšuje zájem o zajištění zdravotní nezávadnosti potravin.

Vláda ČR přijala usnesení č 1320/2001 ke strategii bezpečnosti potravin, kde jsou zahrnuty klasické postupy k toxikologickému hodnocení – „ posouzení rizika „ ,
„ management rizika „ a „ komunikace o riziku“ včetně zavedení varovných systémů RASFF (Rapid Allert Systém For Food).

V rámci Codex Alimentarius v kodexové komisi pro aditiva a kontaminanty v potravinách (CCFAC) došlo ke změnám v hodnocení bezpečnosti (safety evaluation), kde na základě základního toxikologického hodnocení stanovené NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) se kromě klasické ADI (Acceptable Daily Intake) k modifikacím tohoto pojmu PTWI (provisional tolerble weekly intake) MTDI (maximum tolerable daily intake) a PMTDI (provisional tolerable daily intake) přiřadil nově pojem pro hodnotu přípustného tolerovatelného měsíčního přívodu – PTMI (provisional tolerable monthly intake). Tato hodnota se má používat pro látky s vysokým stupněm kumulace a pomalým vylučováním. V prvním případě, kdy tato hodnota byla použita se jednalo o skupinu polychlorovaných dibenzodioxinů (PCDDs), polychlorovaných dibenzofuranů (PCDFs) a „ dioxin like „ polychlorovaných bifenylů (PCBs) . Hodnota PTMI byla vyjádřena jako suma v TEF 70 pg/kg t.h.(tělesné hmotnosti). Pro tyto látky přijala nové limity EU pro játra 6 pg, maso přežvýkavců, mléko a vejce 3 pg, pro maso drůbeží smíšený tuk a olej z ryb 2 pg, pro maso vepřů 1 pg, pro rostlinný olej 0,75 pg vše vyjádřeno jako WHO-TEQ PCDD/F na g tuku, u svaloviny ryb je hodnota 4 pg na kg. Harmonizace naší legislativy s předpisy Evropské Unie za touto změnou pozůstává a připravuje její zařazení do další novelizace vyhlášky o chemických požadavcích na zdravotní nezávadnost potravin č. 53/2002.

V části kontaminujících látek došlo již ve vyhlášce č. 53/2002 k úpravám hodnot pro některé toxické kovy, zejména olovo, kadmium a rtuť. Byly upřesněny druhy potravin, pro které jednotlivé hodnoty nejvýše přípustného množství budou platit, jedná se např. o zcela konkrétní přesné označení ryb. U nejvýše přípustných hodnot pro aflatoxiny v obilovinách byla zahrnuta jmenovitě i pohanka.
Základní úpravy byly projednány již 19.6.1998 v Bruselu, další pak vycházejí z Nařízení komise (ES) č. 466/2001 ze dne 8. března 2001 stanovující maximální hladiny určitých škodlivin v potravinách.
Hodnoty pro dusičnany ve vybraných druzích zeleniny byly již upraveny v dřívějších novelizacích, podobně pro aflatoxiny a PCB. V nynější novelizaci jsou zahrnuty všechny limity stanovené v EU. Jsou tedy převzaty hodnoty pro 3 – MCPD
(3- monochlorpropan – 1,2,diol) pro sojovou omáčku a hydrolyzovanou rostlinnou bílkovinu jako nejvýše přípustné množství 0,02 mg /l resp.kg. Scientific Committee for Food EU (Vědecký výbor pro potraviny) prohlásil v r.1997, že 3- MCPD je považován za genotoxický karcinogen a v současné době byly účinky této látky přehodnoceny jako negenotoxický karcinogen in vivo. Tato klasifikace je pro toxikologické hodnocední velmi důležitá, protože genotoxické karcinogenní látky není možno hodnotit klasickým toxikologickým postupem, ale volí se přístup pro bezprahové látky tzv. ALARA (As Low As Reasonably Achievalble) tj. v podstatě stanovení nejnižší hodnoty jaká je prakticky dosažitelná. Tento postup platí

právě pro genotoxické karcinogeny a některé kontaminanty z prostředí. V této souvislosti je nutno podotknout, že výše uvedené toxikologické hodnocení PCDD, PCDF a PCB podle TEF rozhodně nelze vztahovat na karcinogenitu 2,3,7,8, tetrachlor- dibenzodioxinu, který byl jako jediný z této skupiny vyhodnocen jako karcinogen 1. třídy. U této látky platí hodnota TDI (tolerable daily intake), stanovená neklasickým postupem 1-4 pg/kg t.h. Toxikologie PCB a PCDD má řadu zvláštností. PCDD/F jsou klasické kontaminanty, PCB byly vyráběny a různě se účelově používaly. Akutní toxicita PCB je poměrně velmi nízká, zatím co u dioxinů, konkrétně u 2,3,7,8 TCDD, který byl opakovaně hodnocen, je velmi vysoká. Tato látka má hodnotu LD_{50} pro potkana 0,22 mg/kg t.h., pro strychnin je hodnota 16,0 mg/kg t.h. a pro kurare 20,0 mg / kg t.h., takže proti těmto jedům je uvedený TCDD podstatně toxičtější . U hodnot LD_{50} u této látky jsou však značné druhové rozdíly pro morče – 0,6 –1,0 ug, pro myš 600 ug, pro křečka až 5000 ug (5,0 mg !) , vše vyjádřeno na kg t.h.

Nově byly hodnoceny některé mykotoxiny. Pro Ochratoxin A byla stanovena hodnota PTWI 100 ng/kg t.h., ale předpokládá se v 2004 nové hodnocení. Nálezy z různých zemí i evropských u obilí dosahují hodnot až 1,2 – 7,5 ug/kg. Pro T – 2 toxin je stanovena hodnota PMTDI 60 ug/kg t.h. Pro deoxynivalenol (DON) je v rámci EU „ akční „ limit 0,5 mg/kg. V naší vyhlášce je stanovena hodnota přípustného množství 2,0 mg / kg pro obiloviny, stejně jako v Nizozemí a Kanadě, pro mouku u nás je přípustné množství pro DON 1,0 mg/kg, stejně jako v USA a Švýcarsku.

Na listině priorit pro CCFAC byly v r. 2002 zařazeny kromě jiných látek též As, Cd, námelové alkaloidy, ethyl karbamát, kyselina glycyrrhizinová, fenylhydraziny vč. Agaritinu, PAU, včetně benzo(a)pyrenu.

LEGISLATIVNÍ VÝVOJ V OBLASTI CHEMICKÝCH POŽADAVKŮ NA POTRAVINY A ZKOUŠENÍ POTRAVINÁŘSKÝCH VÝROBKŮ

Kocourek V.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha
Technická 3, 166 28 Praha 6; *E-mail*: Vladimir.Kocourek@vscht.cz; *tel.* 0602 845540

V posledních asi pěti letech došlo v České republice k výrazným změnám v legislativních požadavcích jednak na chemickou bezpečnost potravin a jednak na procesy jejich zkoušení, včetně způsobu interpretace výsledků takových zkoušek. Základem moderní potravinářské legislativy se stal (dlouhá léta připravovaný) Zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích, který velmi zřetelně vymezil povinnosti podnikatelů při výrobě potravin a při jejich uvádění do oběhu a který významně inicioval harmonizaci českého potravinového práva s legislativou EU.

1. Zákon o potravinách

Za dobu své platnosti byl Zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách již podroben několika změnám a doplňkům, z nichž ty nejvýznamnější byly provedeny Zákonem 306/2000 Sb. (s účinností v průběhu roku 2001), kde pozornost vzbudily především úpravy týkající se potravin nového typu a tzv. GMO, a nyní Zákonem 146/2002, kterým se od r. 2003 zřizuje "staronová" Státní zemědělská a potravinářská inspekce, která bude u fyzických a právnických osob vykonávat státní dozor nad dodržováním povinností vyplývajících z právních předpisů v souvislosti se všemi potravinami a surovinami určenými pro jejich výrobu. Od Zákona o potravinách se odvíjí právní působnost celé řady vyhlášek, které prostřednictvím Sbírky zákonů vyhlašují Ministerstvo zemědělství a Ministerstvo zdravotnictví.

2. Požadavky na chemickou bezpečnost potravin

Nejrozsáhlejší soubory specifických požadavků na zdravotní nezávadnost potravin byly rozděleny do dvou oblastí: na mikrobiologickou a chemickou; tomu pak odpovídala struktura vyhlášek vydaných Ministerstvem zdravotnictví. Od samého začátku však bylo jasné, že soubor chemických požadavků tvořený Vyhláškou Ministerstva zdravotnictví 298/1997 Sb. je příliš rozsáhlý, značně různorodý a v určitých oblastech stále ještě nedostačující.

Do samostatné Vyhlášky č. 273/2000 Sb. byly tedy převedeny veškeré požadavky na obsahy reziduí veterinárních léčiv v mase a v potravinách živočišného původu. Maximální limity reziduí pesticidů v potravinách a surovinách jsou od r. 2000 rovněž stanoveny ve speciální Vyhlášce č. 322/1999 Sb. Ve shodě s EU jsou zde např. rezidua pesticidů v potravinách pro dětskou a kojeneckou výživu limitována na jednotnou hladinu 0,01 mg/kg, což odpovídá prakticky téměř "nulovým" nálezům. Limity jsou (stejně jako dosud) členěny podle toho, zda se jedná o rezidua po aplikaci během vegetace nebo o rezidua po aplikaci při ochraně skladových zásob, případně jiného původu (již dávno nepovolené chlorované pesticidy stále persistující v prostředí).

Od 1.3.2002 byla původní Vyhláška 298/1997 Sb. zrušena docela a namísto ní vstupuje v platnost Vyhláška 53/2002 Sb. zahrnující potravinářská aditiva, kontaminanty, pomocné látky a potravní doplňky. V oblasti přídatných látek došlo k úpravám souvisejícím

především s další harmonizací s evropskými předpisy, rozšířením možností pro výrobce a s větší transparentností předpisu.

V části týkající se kontaminantů byly například pro polychlorované bifenyly (PCB) významně zpřísněny limity (NPM) v mléku, mléčných výrobcích a v mase vepřovém, hovězím a drůbežím (včetně výrobků). Hodnoty NPM byly sníženy též pro obsahy aflatoxinu B_1 v arašídech, obilovinách a ořeších, stejně jako pro obsahy aflatoxinu M_1 v mléku. Rozšířil se okruh potravin, pro které jsou limitovány celkové obsahy aflatoxinů. Z přírodních toxických látek naopak zmizely požadavky na přípustné množství tyraminu. Tabulka limitů (PM) pro obsahy methanolu v nápojích byla rozšířena a byly doplněny PM pro obsahy 3-MCPD v rostlinných hydrolyzátech a v sojové omáčce a též PM kyanovodíku v matolinovici.

Poměrně netradičním způsobem byla zpracována Příloha č.4 k Vyhlášce 53/2002 Sb. věnovaná potravním doplňkům.

Bezpříkladným rozsahem však vyniká nová Vyhláška 52/2002 Sb., která stanovuje požadavky na druhy a obsahy látek určených k aromatizaci potravin. Velmi podrobná klasifikace látek v Příloze 1 zabírá celých 122 stran a činí ze Sbírky zákonů jakési chemické tabulky. Poněkud nelogicky jsou na závěr tohoto stošedesátistránkového díla uvedeny hodnoty NPM pro použití kofeinu a chininu.

3. Nová strategie v bezpečnosti potravin

Zásadní strukturální změny však potravinářskou legislativu v nejbližší době čekají, a to dokonce ve všech členských i přidružených zemích EU. Prvním strategickým dokumentem byla tzv. Bílá kniha o zdravotní nezávadnosti potravin vydaná Evropskou komisí v lednu 2000 a následovaná Nařízením Evropského parlamentu a Rady ES č. 178/2002, které závazně stanovuje obecné principy potravinového práva (požadavky zákona o potravinách), zakládá Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví i postupy týkající se bezpečnosti potravin. Zejména trvá na tom, aby veškeré rozhodování v této oblasti probíhalo na základě vědeckých poznatků a za základní metodu je považována analýza rizika založená na:

i) hodnocení rizika (tj. identifikaci nebezpečí, charakterizaci nebezpečí, zhodnocení expozice a charakterizace rizika),

ii) managementu rizika (kde se berou do úvahy i další aspekty, např. sociální, ekonomické, technické aj.),

iii) komunikaci rizika s veřejností (konzumenty, výrobci a jinými zainteresovanými stranami).

Ministerstvo zemědělství ČR tento vývoj od samého začátku sleduje, vyčlenilo ze svých struktur samostatné oddělení bezpečnosti potravin a připravilo dokument "Strategie zajištění bezpečnosti potravin", který byl usnesením Vlády v prosinci 2001 přijat. Tímto usnesením bylo současně rozhodnuto o vytvoření národní (meziresortní) Koordinační skupiny pro bezpečnost potravin, která bude mít celkem 4 vědecké výbory (pro potraviny, veterinární, pro výživu zvířat, fytosanitární a životní prostředí).

Již zmíněný Zákon č. 146/2002 o Státní zemědělské a potravinářské inspekci nově upravuje a rozšiřuje povinnosti a kompetence nynější ČZPI a například definuje vedle kontroly rovněž samostatný monitoring toxikologicky významných látek v potravinách a surovinách pro jejich výrobu. Z činností, které má SZPI výslovně uvedeny přímo v Zákonu je zajímavé např. ověřování (analytických) metod zkoušení používaných pro účely prováděných kontrol podle dostupných vědeckých poznatků nebo povinnost zajišťovat odborné vzdělávání svých zaměstnanců.

4. Kontrola bezpečnosti potravin a systémy managementu jakosti

Způsob posuzování shody s požadavky na jeho rozsah v závislosti na předpokládaném riziku původně stanovila Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 220/98 Sb. Ta však byla od r. 2002 nahrazena Vyhláškou č. 339/2001 o metodách zkoušení a způsobu odběru vzorků pro kontrolní účely. Pozitivní na nové Vyhlášce je poměrně podrobná specifikace požadavků na postupy a dokumentaci vzorkování. Ustanovení týkající se procesu zkoušení (analýzy) jsou naproti tomu naprosto vágní. Význam akreditace zkušebních laboratořích v souladu s ČSN EN ISO/IEC 17025 v této nové Vyhlášce (na rozdíl od původní) explicitně zdůrazněn není a rozsah i frekvence - a *de facto* i způsob - zkoušení zdravotní nezávadnosti potravin je nyní zcela ponechána na výrobci. Tato změna je částečně odůvodňována návazností kontroly potravinářských výrobků dodavatelem na jeho systém HACCP - to opravdu začíná fungovat ale víceméně jen v případě mikrobiálních rizik, zatímco chemická rizika v systému HACCP z různých důvodů uvažována nejsou a žádná návaznost tu tedy není.

Zákonné požadavky na systém kritických bodů HACCP jsou obsaženy ve vyhlášce MZe č. 147/98 Sb. a později byly Věstníkem MZe doplněny o podmínky (nepovinné) certifikace HACCP. Certifikace systémů jakosti dodavatelů potravin a surovin podle ČSN ISO 9001:2001 ale většinou probíhají *de facto* nezávisle, ačkoli není-li organizace v souladu s požadavky na HACCP, nemůže získat ani certifikát ČSN ISO 9001:2001. Implementace systémů jakosti a jejich certifikace probíhá někdy příliš formálně, což vyplývá z nerespektování specifik potravinářské výroby a nepochopení některých požadavků normy. Bohužel, auditoři systémů jakosti nejsou často schopni odborně posoudit systém HACCP a auditoři HACCP mívají zase jen velmi povrchní znalosti ČSN ISO 9001:2001.

Od letošního roku je však k dispozici norma ISO 15161 "Guidelines on the application of ISO 9001:2000 for the food and drink industry", která na uvedené problémy reaguje a podává výklad umožňující oba systémy vzájemně integrovat nanejvýše efektivním způsobem. Ideálním řešením by bylo, pokud by certifikace ČSN ISO 9001:2001 byla udělována pouze potravinářským podnikům, které předtím anebo současně získají certifikát systému HACCP. Domnívám se, že rozšíření systému HACCP na integrovaný systém managementu jakosti by pro každého výrobce znamenalo získání maximální důvěryhodnosti z hlediska bezpečnosti potravin.

5. Některé související právní předpisy a normativní odkazy:

[1] Zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích ve znění Zák. č. 306/2000, 119/2000 a 146/2002.

[2] Zákon č. 146/2002 Sb. o Státní zemědělské a potravinářské inspekci.

[3] Zákon č. 102/2001 Sb. o o obecné bezpečnosti výrobků

[4] Vyhláška MZ č. 322/1999 Sb., kterou se stanoví maximální limity reziduí pesticidů v potravinách a potravinových surovinách

[5] Vyhláška MZ č. 53/2002 Sb., kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, použití látek přídatných, pomocných a potravních doplňků.

[6] Vyhláška MZ č. 52/1999 Sb., kterou se stanoví požadavky na množství a druhy látek určených k aromatizaci potravin, podmínky použití, požadavky na nezávadnost; podmínky použití chininu a kofeinu

[7] Vyhláška MZ č. 273/2000 Sb., ve znění Vyhlášky č. 106/2002 Sb. kterou se stanoví nejvyšší přípustné zbytky veterinárních léčiv a biologicky aktivních látek používaných v živočišné výrobě v potravinách a potravinových surovinách.

[8] Vyhláška MZe č. 339/2001 Sb., o metodách zkoušení a způsobu odběru a přípravy kontrolních vzorků za účelem zjišťování jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin nebo surovin určených k jejich výrobě.

[9] REGULATION (EC) No 178/2002 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law,establishing the European Food SafetyAuthorityand laying down procedures in matters of food safety.

[10] Vyhláška MZe č. 147/1998 Sb. o způsobu stanovení kritických bodů v technologii výroby.

[11] ČSN EN ISO/IEC 17025:2001 Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří.

[12] ČSN ISO 9001:2001 Systémy managementu jakosti - Požadavky.

SPRÁVNÁ HYGIENICKÁ / VÝROBNÍ PRAXE

Míková K.
Boneco a.s. / VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6

Hygiena výroby byla v naší legislativě poněkud opomíjena. Hlavní důraz byl kladen pouze na HACCP a teprve v pozdějších předpisech (Vyhláška č.287 / 1999 Sb. a Vyhláška č. 107 / 2001 Sb.) je věnována pozornost i požadavkům na SHP. Výše uvedené vyhlášky se však týkají pouze živočišných produktů a stravovacích služeb.
Obecně vycházejí hygienické požadavky z mezinárodních dokumentů, kterými jsou Codex Alimentarius a Směrnice rady EU 93 / 43 / EHS. Tyto předpisy však nejsou pro naše výrobce závazné. V současné době Ministerstvo zemědělství a Potravinářská komora iniciují vypracování vzorových příruček (kódů) SHP / SVP pro jednotlivé komodity, které by měly sloužit jako návod pro výrobce při zpracování vlastní dokumentace. Legislativně jsou již ošetřeny hygienické podmínky pro prodej potravin (Vyhláška č. 295 / 1997 Sb.), pro stravovací služby (Vyhláška č. 107 / 2001 Sb.) a hygienické požadavky na výrobky určené pro styk s potravinami (Vyhláška č. 38 / 2001 Sb.).
Součástí SHP je hygienická produkce potravinových zdrojů, hygiena výrobních prostor a zařízení, hygiena osob, hygiena výroby potravin a hygiena životního prostředí. SVP pak začleňuje zásady SHP do výrobních postupů.

1. *Hygiena výrobních prostor a zařízení*

1.1. Lokalita. Při rozhodování o lokalitě provozu je třeba zvažovat potenciální zdroje kontaminace (souvisí s hygienou životního prostředí). Provozy by měly být umístěny mimo oblasti, kde hrozí záplavy, zvýšený výskyt škůdců a kde nelze účinně odstraňovat odpady. Dále mimo oblasti se znečistěným životním prostředím (výskyt kontaminantů, prachu, kouře, pachů), aby se zabránilo přenosu kontaminace. Naopak platí, že potravinářský závod nesmí být zdrojem kontaminace, pachu, prachu, hluku apod. pro okolí. Příjezdové komunikace musí být pevné, neprašné, odvodněné a čistitelné.

1.2. Budovy. Musí být udržovány v dobrém stavu. Stavební a konstrukční materiály nesmí uvolňovat toxické látky. Pro řádné provádění všech operací musí být vytvořeny odpovídající pracovní prostory. Musí být odděleny prostory s odlišnými mikroklimatickými podmínkami, které by mohly nepříznivě ovlivnit úroveň hygieny a smyslových znaků. Konstrukce musí být neporušené bez nechráněných otvorů a musí bránit vstupu kontaminace a škůdců. Podlahy, stěny a stropy musí být z netoxického, pevného, nepropustného, hladkého (ale neklouzavého) snadno čistitelného materiálu, který je odolný proti hnilobě a není zdrojem kontaminace. Podlahy musí mít dostatečný sklon a musí umožňovat snadný odtok vody do kanalizačních vpustí opatřených sifonáží. Spoje mezi podlahou a stěnami a kouty musí být zaobleny (fabiony). Rozvody musí být vedeny skrytě. Stropy, schody a visuté konstrukce musí být snadno čistitelné a nesmí se na nich usazovat nečistoty a kondenzát. Výrobní prostory se koncipují bez oken nebo s okny pevně uzavíratelnými se šikmými parapety. Otevíratelná okna musí být vybavena sítěmi proti hmyzu. Dveře musí být z dobře omyvatelného materiálu a musí těsnit. Totéž platí pro okenní rámy. Jednotlivé prostory musí být odděleny, aby nedocházelo ke křížové kontaminaci. Osvětlení musí mít intenzitu odpovídající výrobní a kontrolní činnosti. Musí být zabezpečena dostatečná výměna vzduchu (větrání), aby se zamezilo hromadění prachu, zápachu a kondenzaci vlhkosti. Vzduch nesmí proudit z nečistých do čistých prostor, filtry musí být snadno vyměnitelné a čistitelné.

Teplota prostor musí odpovídat charakteru činnosti (mrazírny -18º C, chladírny do 5º C, zpracování rizikových surovin a výrobků do 12º C a teplé provozy do 25º C.

1.3. Voda. Provoz musí být napojen na zdroj pitné vody, jejíž kvalita se pravidelně kontroluje a dokumentuje. Užitková voda musí být vedena v oddělených systémech. Kanalizace a všechny systémy odpadních vod musí být vybaveny vodními uzávěry a lapači pachů.

1.4. Odpady. Musí se pravidelně odstraňovat z výrobních prostor. Kontejnery na odpady musí být uzavíratelné, sanitovatelné a zřetelně označené. Konfiskáty se musí skladovat v samostatných místnostech a do obalů určených k tomuto účelu.

1.5. Nebezpečné látky. Musí se skladovat odděleně a musí být řádně označené. Manipulovat s nimi může pouze osoba poučená.

1.6. Zařízení. Požadavky (včetně obalů) jsou částečně ošetřeny v zastaralých směrnicích ze 70. let. Všechny předměty a zařízení, které přicházejí do styku s potravinou, musí být udržovány v bezvadném technickém stavu, fungovat v souladu s určeným použitím(včetně možností monitorování požadovaných parametrů). Musí být zpracován harmonogram údržby. Nesmí být zdrojem kontaminace, musí být snadno čistitelné (rozebíratelné) a musí být instalovány tak, aby byla možná údržba i čištění včetně okolních prostor. V provozu musí být zařízení na čištění nástrojů (s teplou vodou a desinfekcí) oddělené od zařízení na mytí rukou.

1.7. Transportní prostředky. Musí být z vhodných materiálů, v dobrém stavu, aby chránily potraviny před kontaminací. Musí být zhotoveny tak, aby bylo možno provádět odpovídající čištění a desinfekci.

2. *Hygiena osob*

V provozu musí být co nejblíže pracovním místům dostatečný počet zařízení na mytí a desinfekci rukou. Umyvadla musí být vybavena studenou a teplou vodou, mycími a desinfekčními prostředky, být bezdotyková a vybavená osoušeči rukou nebo ručníky k jednomu použití.

Musí být k dispozici dostatečný počet šaten a WC. Záchody nesmí být přímo spojeny s výrobními prostorami. V šatnách musí být udržován pořádek. Musí být oddělené úložné prostory na venkovní oděvy a pracovní oděvy a obuv. Osoby pracující s potravinami musí nosit vhodný světlý čistý pracovní oděv, obuv a pokrývku hlavy. Podle charakteru výroby mohou být požadovány i roušky a jednorázové rukavice. Před vstupem na pracoviště si pracovníci musí umýt ruce (eventuelně projít hygienickou smyčkou) a odložit šperky. Osobní věci se nesmí vnášet do výrobních prostor. Ve výrobních prostorách je zakázána konzumace jídla, pití a kouření. přístup do výrobních prostor mají pouze oprávněné osoby (zaměstnanci a kontrolní orgány).

Všichni pracovníci se musí pravidelně proškolovat v hygienickém minimu, mít zdravotní průkaz a jsou povinni hlásit jakékoliv infekční onemocnění (vlastní i v okolí).

3. *Hygiena výroby*

Hygienou výroby potravin se rozumí všechna opatření a pravidla, která jsou nezbytná pro výrobu zdravotně nezávadných a jakostně vyhovujících potravin. Tato opatření a pravidla zahrnují všechny stupně výroby od prvovýroby přes přípravu, vlastní zpracování, balení, skladování, distribuci (včetně dopravy) a zacházení během nabídky spotřebiteli. Všechny tyto kroky musí probíhat v hygienicky nezávadných podmínkách. Tato oblast úzce souvisí s SVP. Součástí hygieny výroby jsou technologické postupy, receptury, HACCP, sanitace, desinsekce a deratizace.

Technologické a pracovní operace musí být uspořádány tak, aby při nich nemohlo docházet ke vzájemné (křížové) kontaminaci. Současně musí být zajištěny odpovídající teplotní podmínky pro výrobní proces i skladování potravin a surovin. Všechny operace výrobního

cyklu včetně balení se musí provádět bez zbytečných časových prodlev a za podmínek zabraňujících možnost kontaminace a pomnožování mikroorganismů. K výrobě se nesmí používat suroviny, které obsahují chemické kontaminanty nebo patogenní mikroorganismy, pokud výrobní proces neumožňuje jejich snížení na přijatelnou úroveň. Používané přídatné látky musí splňovat požadavky legislativy. Vybalování surovin musí probíhat v k tomu vymezených prostorách, ve výrobním prostoru nesmí být žádné dřevo, zbytky obalů a nespotřebovaných surovin. Během výroby nesmí docházet ke hromadění nečistot, kontaktu s toxickými látkami a živočišnými škůdci, k vnikání cizích částic do potraviny, ke kondenzaci vody a růstu plísní. Potraviny, které byly během výroby znečištěny nebo které nesplňují kriteria na jakost a zdravotní nezávadnost se nesmí vracet zpět do výrobního procesu.
Každá provozovna musí mít stanovený režim úklidu, čištění a desinfekce (sanitace). Všechny pracovní plochy a zařízení musí být čištěny odpovídajícím způsobem (kritickým je věnována zvláštní pozornost). Používané čistící a desinfekční prostředky musí být pro daný účel vhodné, musí být povolené pro použití v potravinářství a nesmí potravinu kontaminovat. Po ukončení denního pracovního cyklu (směny) musí být rovněž vyčištěny podlahy (včetně kanálků) a ve stanovených intervalech i stěny, stropy a konstrukce. Sanitace se provádí podle sanitačních plánů. Existuje řada sanitačních režimů podle druhu zpracovávané potraviny, technologie a technického řešení závodu. Účinnost sanitace se musí kontrolovat a veškeré procesy by měly být zdokumentovány.
Potravinářské provozovny musí být pravidelně kontrolovány na výskyt živočišných škůdců. Při zjištění výskytu škůdců musí být ihned zahájena opatření k jejich likvidaci (desinsekce a deratizace). Prevencí je zamezení průniku hlodavců, ptáků a hmyzu do budov.
Součástí SHP / SVP je i výcvik zaměstnanců, vedení a kontrola dokumentace o všech rozhodujících činnostech (např. surovinách, HACCP, sanitaci, deratizaci atd.).
Základním motem pro každého výrobce by mělo být „Nedávej lidem k jídlu něco, co bys sám nejedl“.

POVINNÉ OZNAČOVÁNÍ HOVĚZÍHO MASA PŘI PRODEJI

Prugar J.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6

Ke konci roku 2000 a na počátku roku minulého se opět objevily informace o zvýšeném výskytu BSE u skotu v zemích západní Evropy, ale i na Slovensku a podpořily se obavy z přenosu nákazy na člověka i mezi našimi spotřebiteli. Následně došlo k výraznému poklesu odbytu jatečného skotu a snížení jeho nákupních cen. Vzhledem k přijatým veterinárním opatřením byl v podstatě zastaven dovoz skotu a hovězího masa a současně byl omezen i subvencovaný export.

Výroba hovězího masa u nás v minulém roce poklesla na 175 tisíc tun živé hmotnosti oproti 210 tisícům v roce 2000. Přitom ještě v roce 1996 to bylo téměř 310 tisíc tun! Současná spotřeba na jednoho obyvatele činí v průměru jen něco málo přes 10 kg za rok, v roce 2000 to bylo 11,5 kg. Ve srovnání s rokem 1991 je to snížení o více než polovinu.
Pokles zájmu o hovězí maso je problémem celosvětovým již od šedesátých let minulého století. U nás byl ovšem zastíněn centrálním plánováním a hospodařením. Snížení poptávky bylo způsobeno nízkou kvalitou hovězího masa, upadající kulturou prodeje, snižováním stavu krav a naopak rostoucí dynamikou nabídky kvalitního vepřového a zdravotníky doporučovaného drůbežího masa. Nákupní ceny jatečních prasat se i při mnohem nižší kupní síle obyvatelstva vyšplhaly na úroveň zemí EU a naopak ceny hovězího klesly až pod hladinu rentability výroby. BSE byla jen jedním, i když pořádným, hřebíčkem do rakve. Proto také předseda představenstva Českého svazu zpracovatelů masa doc. Steinhauser vidí v aféře okolo BSE v Evropě vedle odborné především politickou a obchodní záležitost. I u nás to znamenalo toliko viditelnou špičku ledovce onoho již deset let trvajícího poklesu zájmu o hovězí maso. Zůstává však optimistou: podle něho se i v ČR může produkce a zpracování hovězího v budoucnu stát zajímavým obchodním artiklem, program nutno ovšem cíleně rozvíjet, a to i s pomocí státu. Základem k tomu je neodkladné vybudování image vysoké kvality a vzájemné důvěry všech zainteresovaných od chovatele až po zákazníka v maloobchodě. Jeden z důležitých kroků k tomu byl učiněn v podzimních měsících minulého roku. Počátkem října 2001 vstoupila v platnost vyhláška stanovující povinnosti označování hovězího masa při prodeji. Smyslem této vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 326/2001 spočívá v tom, aby zákazník byl dostatečně informován o původu zvířete a místě jeho porážky a z jak starého kusu maso pochází. Pro kuchyňské zpracování je to velice důležité. Dosud praktikovaný způsob udával pouze o kterou část těla jatečného zvířete jde (přední, zadní kýta, krk atd.) a pokud se stáří týče, činil se rozdíl jen mezi hovězím a telecím. Teprve v poslední době se navíc ve vybraných obchodech začaly objevovat nové termíny pro označení masa jako „extra“, „výběrové“, „baby beef“ aj. pro produkty z mladých býků ze sledovaných chovů a také „bio-maso“ ze zvířat chovaných v přísně kontrolovaných podmínkách ekologického zemědělství.
Od nového nařízení se právě očekává, že podpoří a znovu navrátí důvěru zákazníků hovězí maso. Spotřebiteli se tak dostává vyčerpávající odpověď na otázku odkud maso pochází a jak je zralé a současné má záruku, že bylo kontrolováno i z hlediska zdravotní bezpečnosti, což u kusů starších 30 měsíců zahrnuje i kontrolu na BSE. V případě vzniku nějakého problému je pak možno operativně zasáhnout a učinit nápravu.
Zavedení vyhlášky hnulo žlučí některých řezníků a uzenářů. Rozhořčil je hlavně údaje příliš krátký termín na přípravu. Ne všichni počítali s tím, že ministerstvo skutečně dodrží stanovený termín. Poukazovalo se při tom na to, že v EU měli dobu přípravy podstatně delší. Argumentovalo se i s opodstatněnou námitkou, že realizace vyhlášky v praxi bude stát nějaké

peníze. Ministr a s ním vláda, Státní veterinární správa, poslanci i senátoři se však umluvit nenechali. S poukazem na prioritu bezpečnosti potravin pro našeho spotřebiteli se termín 1. října dodržel s tím, že kontrolní orgány do konce roku 2001 byly benevolentnější při udělování pokut. A věru, že v některých provozovnách si o postih přímo koledovali. Namísto popisu konformního s vyhláškou, se leckde na pultě „skvěl“ jen kus papíru s pouze málo říkajícím údajem, že jde o „maso z mladého býka“. Dokonce někde neváhali garantovat čerstvost nesmyslným tvrzením, že je to „křehké býčí z mladého kusu včera poraženého“. Právě to je z hlediska kvality čistá absurdnost, neboť maso bez nutného a předepsaného odležení vůbec nesmí na prodejní pult přijít. Vyskytly se i perličky, kdy v „čerstvém“ mase kontroloři neomylně poznali maso včera vyjmuté z mrazírny, kde si před tím pár týdnů pobylo. Ze strany prodavačů se někdy ozval i argument, že „devadesát procent kupujících stejně nerozezná ani hovězí od vepřového, tak jaképak podrobnosti“… S takovým zlehčujícím přístupem by ovšem nová norma užitek nepřinesla a minula se účinkem. Věřme, že zmíněná extempora byla jen vyjímečná. Naprostá většina příslušníků řeznického cechu se k novince (i když někdy i se zaťatými zuby) postavila kladně, s porozuměním, jako ke startu něčeho dobrého pro spotřebitele i pro řemeslo samé.

V letošním roce se ovšem kontroluje již bez neodůvodněné ohleduplnosti k nevstřícným provozovatelům. Vědomé klamání nesprávným označováním možno podle zákona o potravinách postihovat až několikamilionovými pokutami.

Podle nového předpisu bychom tedy měli vždy vědět co nakupujeme a zda to splňuje naše představy, co vlastně chceme z hovězího masa uvařit. Na polévku či omáčku si můžeme koupit lacinější maso z krávy. Staré vyřazené krávy z mléčných plemen by ovšem na náš stůl vůbec neměly přicházet. V EU bude zřejmě brzy platit (a někde tomu již tak je), aby z lidské výživy byly vyloučeny dojnice starší 30 měsíců. K tomu ještě možno dodat, že maso z mléčných plemen není ani u zdravých a mladších zvířat nijak zvlášť kvalitní. Naopak křehké maso z mladých „masných“ kusů bude sice dražší, ale mělo by dávat záruku, že biftek bude šťavnatý a nebude připomínat při kousání podešev.

Zavedení předepsaného označování zatím hovězího masa v obchodech přispěje každopádně ke zvýšení kultury prodeje a v tomto ohledu to znamená další krok k situaci v zemích EU. Stojí při tom za zmínku, že koncem listopadu 2001 schválila příslušná komise EU direktivu upřesňující rozlišování v označování masných produktů ve všech členských zemích s termínem 1. leden 2003. Podle této direktivy bude jako maso definována pouze svalovina. Ostatní části zvířat určené ke konzumaci, zejména vnitřnosti a tuky, budou muset být označovány jako takové a nebudou více nazývány masem. „Spotřebitelé mají právo být co nejlépe informováni o potravinách, které nakupují. Chceme jim pomoci při výběru se znalostí věci“ hovoří se v komentáři k usnesení Komise pro zdravotnictví a ochranu spotřebitele k této direktivě. Je dobře, že náš postup na tomto úseku je plně ve shodě s touto pokrokovou tendencí.

VYUŽITÍ PREDIKTIVNÍ MIKROBIOLOGIE V ANALÝZE NEBEZPEČÍ

Pivoňka J., Cahlíková N., Voldřich M., Čeřovský M.
Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Techická 5, 166 28 Praha 6

Nebezpečí je v produkci potravin definováno jako činitel, který může být potenciální příčinou poškození zdraví spotřebitelů.
Codex Alimentarius definuje proces analýzy nebezpečí jako proces sbírání a hodnocení informací o nebezpečí a o podmínkách vedoucích k jejich výskytu, na jejichž základě je rozhodnuto, jsou-li některá z těchto nebezpečí z hlediska bezpečnosti potravin významná a mají-li být z tohoto důvodu zahrnuta do plánu HACCP.

Analýza nebezpečí se skládá ze dvou kroků: (I) identifikace nebezpečí (proces stanovení potenciálních nebezpečí) a (II) hodnocení závažnosti nebezpečí (určující, která z identifikovaných nebezpečí jsou natolik významná, že je pro jejich kontrolu požadován CCP).
Při identifikaci nebezpečí se posuzuje zejména:

- vliv surovin a přísad použitých k výrobě potravin
- vliv způsobu a technologie výroby potravin
- vliv výrobních procesů na ovládání nebezpečí
- konečné použití výrobku
- epidemiologická situace v rozsahu příslušného území související se zdravotní nezávadností potravin

Možná nebezpečí se rozdělují do tří skupin na biologická, chemická a fyzikální. Mezi hlavní biologická rizika patří zejména kontaminace mikroorganismy a produkty jejich činnosti. K této kontaminaci může docházet přenosem ze surovin, pomnožením mikroflóry nevhodným zacházením s polotovary nebo výrobkem, nedostatečným konzervačním zákrokem a nebo kontaminací po jeho provedení. Právě při analýze těchto nebezpečí je možné použít prediktivní mikrobiologie.

Modely popisující chování mikroorganismů je možné rozdělit do tří skupin na primární, sekundární a terciální. Primární modely popisují růstové nebo inaktivační diagramy. Pro popis tvorby toxinu a jiných parametrů vázaných na růst mikroflóry používají kinetiku prvního řádu nebo sigmoidální křivky (např.: Gompertzova funkce nebo růst a odumírání podle kinetiky prvního řádu). Sekundární modely jsou schopné do kinetiky růstu, odumírání, přežívání, tvorby zákalu nebo toxinu zahrnout i řadu dalších vlastností okolního prostředí, kterými jsou například pH, a_w, koncentrace dalších látek v prostředí a tak mohou vytvářet přesnější popis chování systému. Terciální modely v sobě zahrnují vlastnosti obou modelů shrnuté do uživatelsky příjemného prediktivního software, kterým je například Food MicroModel nebo Pathogen Modeling Program. Tyto modely jsou uzpůsobené pro používání v běžné praxi a umožňují rychle získat přehled o mikrobiologické kontaminaci a možnostech jejího řešení.

V této práci byly použity oba výše uvedené prediktivní software. Oba programy umožňují získávat přehled o chování systému mikroorganismů na základě znalostí a_w, pH, teploty a popřípadě přítomnosti konzervačního činidla. FMM oproti PMP disponuje větší databází mikroorganismů neumožňuje však zjistit interval spolehlivosti jednotlivých predikcí, který může být vzhledem k různorodostech v chování mikroorganismů poměrně široký.

První ukázkou použití prediktivního software je stanovení bezpečné doby prodlevy mezi plněním a sterilací masových konzerv. Doba prodlevy byla určována zejména kvůli tvorbě kyseliny mléčné, z tohoto důvodu byl k predikcím použit Lactobacilus plantarum. Jako limitující byla brána kontaminace 106, při níž začíná vizuálně postřehnutelná tvorba plynu

(CO2) a dochází ke vzniku nakyslé vůni a chutě (produkce kyseliny mléčné). Obvyklá povrchová kontaminace masa se pohybuje okolo 104 /g, tato hodnota byla při výpočtech brána jako počáteční kontaminace. Maximální doby prodlevy při různých teplotách jsou uspořádány v tabulce I ze které je možné určit bezpečnou teplotu a dobu úchovy díla před sterilací.

Výpočty byly provedeny pomocí software Food MicroModel. Podmínky kultivací byly pH=6,2 a aw=0,997.

Tabulka I
Maximální doby prodlevy mezi plněním a sterilací konzerv při různých teplotách

Teplota °C	Čas (hodiny)
10	70
20	12
30	5
40	5

Druhou ukázkou použití prediktivního software je posouzení části vyhlášky. Vyhláškou 107/2001, kterou se provádí § 108 odst. 1 zákona č. 258/2000Sb. o ochraně veřejného zdraví, se stanovují mimo jiné požadavky na teploty a maximální doby úchovy hotových pokrmů v době mezi jejich přípravou a výdejem. Hodnoty těchto kritérií stanovené vyhláškou se zdají být velmi přísné. Jejich srovnání s hodnotami stanovenými Codexem Allimentarius ukazuje tabulka II. Právě tento rozdíl byl impulsem k jejich posouzení

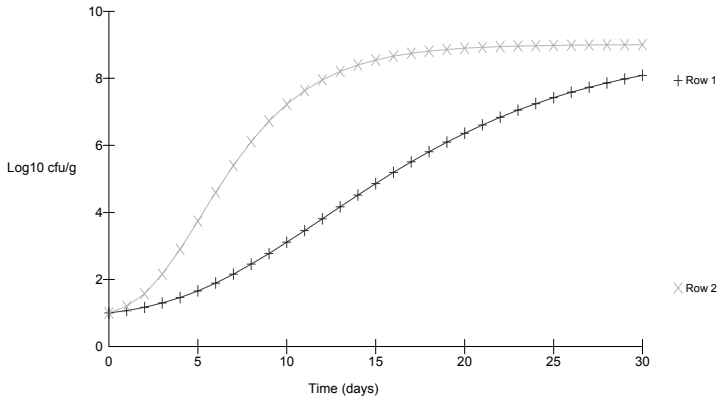
Tabulka II
Srovnání teplot a dob úchovy pokrmů stanovených Codexem Allimentarius a vyhláškou 107/2001

Pokrm	Vyhláška č.107/2001	Codex Alimentarius
Teplý určený k přímé spotřebě	Musí být vydány do 3 h od ukončení tepelné úpravy a udržovány při teplotě +70°C s tolerancí poklesu o 3°C.	Pokrm je udržován a vydáván strávníkovi jakmile je to možné při teplotě nejméně 60°C.
Studené pokrmy	Musí být vydány do 6h až dvou dnů (podle typu výrobku) od výroby a skladovány při teplotě do +4°C. U některých je možné výdej prodloužit do tří dnů za předpokladu šokového zchlazení na teplotu +2°C.	Pokrmy musí být skladovány při teplotě do 4°C a vydány nejdéle do pěti dnů včetně dne výroby a výdeje.

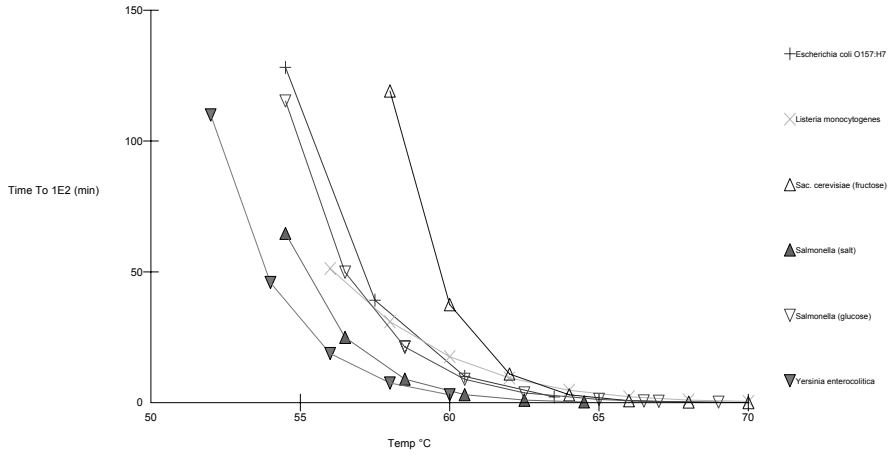
Při posuzování byl použit prediktivní software Food MicroModel, pomocí kterého byly za optimálního pH a vodní aktivity vytvořeny modely chování mikroorganismů při dodržení podmínek vyhlášky 107/2001 Sb. a Codexu Allimentarius. Při teplotách úchovy teplých pokrmů dochází pouze k odumírání mikroorganismů, proto byly modelovány pouze inaktivační účinky teploty pro různé mikroorganismy Při posuzování teplot a dob úchovy chlazených pokrmů byla vybrána Listeria minocytogennes, která je schopná se nejlépe množit i při nízkých teplotách. Zároveň proběhla měření teplot pokrmů před výdejem ve dvou různých provozovnách veřejného stravování.

Výsledky měření jsou zpracovány v grafech 1, 2. Jak je patrné z grafu 1, kombinace krátké doby a velmi nízké teploty úchovy chlazených pokrmů je přísný. Na druhou stranu nedodržení jednoho z těchto legislativních požadavků již vyžaduje striktní dodržení druhého, jinak by mohla být ohrožena mikrobiologická kvalita pokrmu. Graf 2 ukazuje, že i při teplotě stanovené Codexem Allimentarius dochází k odumírání mikroorganismů. Vzhledem k tomu, že uchovávání pokrmu předchází podle legislativy jeho dostatečná teplená úprava, je teplota 70°C stanovená naším právním předpisem neopodstatněná. Stanovená tříhodinová lhůta pro všechny teplé pokrmy je z mikrobiologického hlediska také velmi přísná. Otázkou zůstává senzorická kvalita takto uchovávaných pokrmů.

Graf 1
Model růstu Listerie monocytogennes při teplotě 4 a 8°C; aw=0,997; pH=6; počáteční kontaminace 10 CFU/g



Graf 2
Model odumírání různých mikroorganismů při různých teplotách pH=6 (5,5); aw=0,996; počáteční kontaminace 109 CFU/g; osa y doba(min) za kterou je dosaženo koncentrace 102 CFU/g



Poslední ukázkou je predikce chování mikrooorganismů během úchovy hotových špekových knedlíků. Tentokrát byl použit software PMP, protože FMM neumožňoval predikce růstu při vyšších teplotách. Nejprve byla zjištěna teplotní historie knedlíku na níž navazovalo modelování chováni mikroorganismů. Vybrána byla pouze část teplotní historie, při které bylo možné očekávat růst mikroorganismů. Po úchově následovala ještě regenerace. Otázkou tedy bylo zda je možná aby došlo k tvorbě termostabilního toxinu. Výsledky jsou

zpracovány v tabulce III ze které vyplývá, že při této teplotní historii dosáhne Staphylococcus aureus 100% lagfáze a následuje ještě téměř deset minut úchovy při teplotách 32-42°C. Podmínkou pro tvorbu toxinu je však kontaminace nejméně 10^5 CFU/g, které nelze během deseti minut dosáhnout ani při počáteční kontaminaci 10^4 CFU/g. Doba zdvojení při těchto teplotách je totiž dvacet minut.

Tabulka III
*Rozvoj vybraných MO – **USDA PMP** (a_w = 0,997 pH = 6,5)*

Teplota [°C]	Doba [min]	**Bacillus cereus**		**Staphylococcus aureus**	
		Lag fáze [hod]	Absolvování lag fáze [%]	Lag fáze [hod]	Absolvování lag fáze [%]
39	1,8	1,0 (0,7-1,5)	3,0 (4,3-2,0)	1.1 (0,9-1,5)	2,7 (3,3-2,0)
38	3,7	1,0 (0,7-1,5)	9,1 (13,1-6,1)	1,1 (0,8-1,4)	8,3 (11-6,4)
37	6,0	1,0 (0,7-1,4)	19,1 (27,4-13,2)	1,0 (0,8-1,3)	18,3 (23,5-14,1)
36	5,8	1,0 (0,7-1,4)	28,8 (41,2-20,1)	1,0 (0,8-1,2)	28 (35,6-22,2)
35	10,2	1,0 (0,7-1,3)	45,8 (65,5-33,2)	1,0 (0,8-1,2)	45 (56,9-36,4)
34	8,4	1,0 (0,7-1,4)	59,8 (85,5-43,2)	0,9 (0,8-1,2)	60,6 (74,4-48,1)
33	7,7	1,0 (0,7-1,4)	72,6 (103,8-52,4)	1,0 (0,8-1,2)	73,4 (92,7-58,8)
32	5,5	1,0 (0,7-1,4)	81,8 (116,9-58,9)	1,0 (0,8-1,2)	82,6 (104,2-66,4)
31	15,0	1,1(0,7-1,5)	104,5 (152,6-75,6)	1,0 (0,8-1,3)	107,6 (135,45-85,6)
32	1,9	1,0 (0,7-1,4)	107,7 (157,1-77,9)	1,0 (0,8-1,2)	110,8 (139, 5-88,2)
33	1,1	1,0 (0,7-1,4)	109,5 (159,7-79,2)	1,0 (0,8-1,2)	112,6 (141,8-89,7)
34	0,8	1,0 (0,7-1,4)	110,8 (161,6-80,2)	0,9 (0,8-1,2)	114,1 (143,5-90,8)
35	0,7	1,0 (0,7-1,3)	112,0 (163,3-81,1)	1,0 (0,8-1,2)	115,3 (145,0-91,8)
36	0,6	1,0 (0,7-1,4)	113,0 (164,7-81,8)	1,0 (0,8-1,2)	116,3 (146,3-92,6)
37	0,6	1,0 (0,7-1,4)	114,0 (166,1-82,5)	1,0 (0,8-1,3)	117,3 (147,6-93,4)
38	0,5	1,0 (0,7-1,5)	114,8 (167,3-83,1)	1,1 (0,8-1,4)	118,1 (148,6-94,0)
39	0,6	1,0 (0,7-1,5)	115,8 (168,7-83,8)	1.1 (0,9-1,5)	119,0 (149,7-94,7)
40	0,6	1,1 (0,8-1,7)	116,7 (170,0-84,4)	1,2 (0,9-1,6)	119,8 (150,8-95,3)
41	0,6	1,2 (0,8-1,8)	117,5 (171,3-85,0)	1,3 (1,0-1,8)	120,6 (151,8-95,9)
42	0,6	1,3 (0,8-2,0)	**118,3 (172,6-85,5)**	1,5 (1,1-2,0)	**121,3 (152,7-96,4)**

Výše uvedené příklady ukazují různé možnosti použití prediktivní mikrobiologie v praxi. Používaný software má velmi snadné ovládání, přesto však vyžaduje alespoň základní znalosti v oblasti mikrobiologie. Nedá se předpokládat, že by v dohledné době plně nahradily podobné programy klasické metody sledování mikrobiálního rozvoje, avšak mohou se stát dobrým pomocníkem při odhadech chování biologického systému a při pátrání po příčinách problémů ve výrobě i mimo ní. Jednoznačnou výhodou modelování chování mikroflóry je časová a finanční nenáročnost, která je však vykompenzována dílem nejistoty.

Literatura:

1. R.L. Buchanan, Using Spreadsheet Software for Predictive Microbiology Applications: J. Food Safety (1991) 11:123-134
2. Michael H. Cassin, Simulation Modeling for Microbial Risk Assessment: Journal of Food Protection (1998) 61 (11): 1560-1566
3. R.L. Buchanan, Predictive Microbiology: Mathematical Modeling of Microbial Growth in Foods: American Chemical Society, ACS Symposium series (1992) 484:250-260
4. R.C. Whiting and R.L. Buchanan, Microbial Modeling: Food Technology (1994) 48(6):113-120

5. Suzane J.C. van Gerwen, Growth and Inactivation Models To Be Used in Quantitative Risk Assessments: Journal of Food Protection (1998) 61(11): 1541-1549
6. Codex Allimentarius CAC/RCP 39-1993 Code of Hygienic Practice for Precooked and Cooked Foods in Mass Catering
7. Vyhláška č. 107/2001 Sb. o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných.
8. K.Housková, Diplomová práce-Analýza rizik v provozech společného stravování (2002).

STANOVENÍ PROLINU VE VČELÍM MEDU JAKO INDIKÁTOR PRAVOSTI MEDU

Táborská S., Královský J., Bunčeková S.
Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko technologická, Katedra analytické chemie ,
nám. Čs. Legií 565, 532 10 Pardubice

Hodnoty obsahu prolinu ve všech druzích medu nasbíraných včelami i v různých geografických pásmech řádově převyšují obsah ostatních aminokyselin. Nižší hodnoty obsahu prolinu signalizují možnost falšování produktu prodávaného jako plnohodnotný med a tím poškození spotřebitele. Harmonizované metody Evropské komise pro med aplikují ke stanovení obsahu prolinu spektrofotometrickou metodu založenou na měření intenzity barevného komplexu prolinu s ninhydrinem při vlnové délce 510nm.

Vzhledem k poměrně dlouhému času analýzy (více jak 60 minut), k malé reprodukovatelnosti absorpčního koeficientu a k možné interferenci ostatních aminokyselin evidentně v medu přítomných, byla studována možnost využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie ke stanovení prolinu v medu.

V rámci této práce byly studovány možnosti stanovení prolinu metodou RP- HPLC s využitím předkolonové derivatizace s těmito derivatizačními činidly:

dansyl chlorid (DNS-Cl)
9-fluorenylmethyl chloroformát (FMOC-Cl)

V literatuře byly nalezeny optimální vlnové délky pro detekci vzniklých derivátů. Při této vlnové délce má derivát prolinu maximální absorpci a interferenty minimální.

Tabulka č.1: Optimální vlnové délky pro detekci derivátů prolinu

Derivát prolinu	Vlnová délka pro UV	Vlnová délka fluorescence
dansyl derivát	254 nm	λ_{ex} = 330 nm λ_{em} = 530 nm
9-fluorenylmethyl derivát	266 nm	λ_{ex} = 260 nm λ_{em} = 313 nm

Pro zjištění vhodné mobilní fáze, jejího procentuálního složení a průtoku byly proměřeny standardy za různých podmínek. Vyhodnocením získaných chromatogramů byly zvoleny optimální podmínky chromatografické separace.Prolin byl rozpuštěn ve vodě a poté podroben derivatizaci jednotlivými činidly. Deriváty byly děleny na koloně SEPARON SGX C18 a na jejich separaci byla použita izokratická, resp. gradientová eluce mobilní fáze. Pro každý derivát byla zvolena tato mobilní fáze: DNS deriváty: směs methanol – voda (60:40) s přídavkem kyseliny octové a triethylaminu. FMOC deriváty: směs acetonitrilu a vody (40:60) s přídavkem kyseliny octové.

Způsoby derivatizace činidlem DNS-Cl a FMOC-Cl byly ověřovány podle několika zdrojů. Jednotlivé způsoby derivatizace se lišily použitým pufrem, teplotou a dobou derivatizace. Jako nejvhodnější způsob derivatizace činidlem DNS-Cl se jevila metoda podle Márqueze[1] a Biondiho[2] . Do 100 ml vodného roztoku prolinu bylo přidáno 100 µl vodného roztoku Li_2CO_3 (upraveného na pH = 9,5). Nakonec byl přidán 20 mM roztok dansyl chloridu (5-Dimethylaminonaftalen-1-sulfonyl chloridu) v acetonitrilu. Směs v reakční

zkumavce byla zabalena do aluminové fólie a nechána hodinu stát při pokojové teplotě nebo 10 min při 40° C na vodní lázni. Získané deriváty DNS-Pro byly analyzovány kapalinovou chromatografií.

Derivatizace činidlem FMOC-Cl byla prováděna podle Armstronga [3]. Ke 4 mg prolinu bylo přidáno 9 ml roztoku voda- acetonitril (1:1) a směs zamíchána. Poté byl přidán 1ml 1% roztoku Na_2CO_3 a vzniklý roztok byl zderivatizován při laboratorní teplotě přídavkem 20mg činidla FMOC-Cl. Reakce byla ukončena po 5 minutách přídavkem 0,5 ml 50% kyseliny octové. Získané deriváty FMOC-Pro byly analyzovány kapalinovou chromatogrfií.

Tabulka č.2: Detekční limit a mez stanovitelnosti FMOC-Cl

	Fluorimetrická detekce	UV detekce
Detekční limit	0,2 µmol/ l	4,3 µmol/ l
Mez stanovitelnosti	0,5 µmol/ l	8,6 µmol/ l

Tabulka č.3: Detekční limit a mez stanovitelnosti DNS-Cl

	Fluorimetrická detekce	UV detekce
Detekční limit	0,1 pmol/ l	0,2 µmol/ l
Mez stanovitelnosti	0,7 pmol/ l	0,3 µmol/ l

Na základě výsledků byla na vzorky medu aplikována metoda s DNS-Cl jako derivatizačním činidlem. Výhodou této metody oproti metodě derivatizace činidlem FMOC-Cl je vysoká citlivost, poměrně dobrá stabilita derivátů, kratší doba analýzy a snadnější a účinnější způsob odstranění přebytečného činidla. Nevýhodou této metody je nepatrně delší čas potřebný k derivatizaci.

Původně byl med k analýze připravován podle Armstronga [3]. Při tomto postupu se však nepodařilo vzorek medu rozpustit. Z 10 g medu v 10 ml roztoku acetonitril – voda (1:1) vznikl pouze přesycený roztok medu.

Dalším krokem v úpravě vzorku byla izolace aminokyselin pomocí katexů. Použity byly kolonky SPE-SCX. Prolin však nebyl touto kolonou zachycen a byl vymyt redestilovanou vodou ve frakci s cukry. Jelikož cukry ani ostatní látky neovlivňovaly významně stanovení prolinu, byl nakonec tento krok vynechán.

Vzhledem k předchozímu byl nakonec med upraven takto:
Naváženy byly 2 g medu a rozpuštěny v 3,75 ml redestilované vody. Některé vzorky byly obtížněji rozpustné, a proto bylo rozpouštění podpořeno zvýšením teploty (max. na 50 ˚C). Po rozpuštění bylo pH roztoku upraveno přídavkem pevného uhličitanu litného na hodnotu 9,5.

K derivatizaci bylo použito 15 mg DNS- Cl rozpuštěného v 1 ml acetonitrilu. Takto připravený roztok byl přidán k roztoku medu a reakční směs byla zabalena do aluminiové fólie. Derivatizace probíhala 15 min na vodní lázni o teplotě 40 ˚C. Po ochlazení bylo přidáno 0,25 ml amoniaku a deriváty byly analyzovány kapalinovou chromatografií.

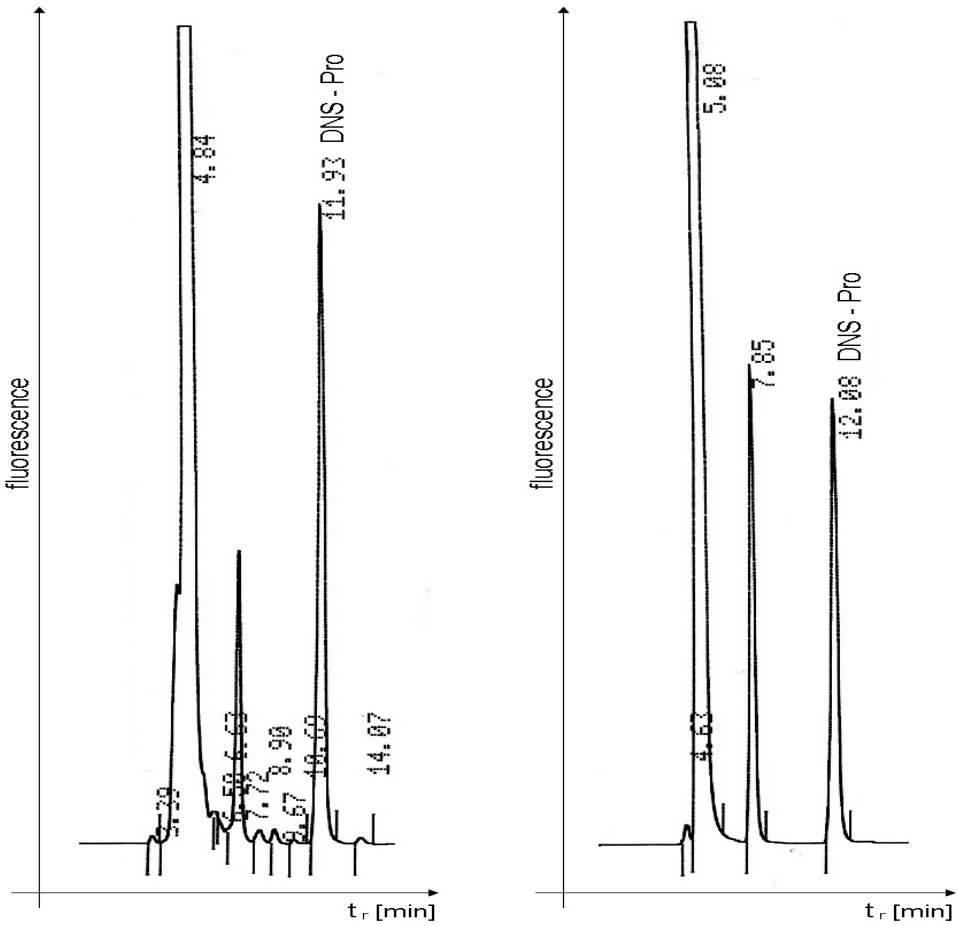
Na separaci derivátů byla nejprve použita kolona Separon SCX C18 3 x 150 mm, 5 µm a pro eluci vzniklých derivátů byla zvolena směs methanol – voda (60:40) s přídavkem kyseliny octové a triethylaminu.

Na koloně Separon SGX C18 4 x 250 mm, 5 µm byly proměřeny vzorky medu a tím bylo ověřeno, zda nedochází ke koeluci derivátu prolinu s deriváty ostatních aminokyselin.

Jako mobilní fáze byla v tomto případě zvolena směs methanol – voda (70:30) s přídavkem kyseliny octové a triethylaminu.

Správnost naměřených výsledků byl ověřena pomoci tenkovrstvé chromatografie, kdy byl jako detekční činidlo použit isatin [4], který reaguje pouze s prolinem za vzniku modrého zbarvení.

Separace standardu DNS-Pro a DNS-Pro ve vzorku medu



Podmínky separace: Kolona Separon SGX C18, 4x250 mm, 5 µm, F_M = 0.5 ml/min, fluorimetrická detekce, 70% methanolu, 30 % redestilované vody s přídavkem 1% ledové kyseliny octové a 0,1% triethylaminu .

Použitá literatura

1) Márquez F. J., Quesada A. R. : Determination of 27 dansyl amino acid derivatives in biological fluids by RP HPLC, Journal of Chromatography B, 380, 1986, str. 275-283.
2) Biondi A. P., Negri A., Ioppolo A.: HPLC determination of taurine in formultions as the dansyl derivate, Journal of Chromatography, 369, 1986, str.431-434.
3) Armstrong, D. W., Pawlowska, M.: Evalution of Enantiomeric Purity of Selected Amino Acids in Honey, Chirality, 6, 1994, str.270-276.
4) Davídek, J. a kol. : Laboratorní příručka analýzy potravin, SNTL, Praha 1981, str. 194.

Tato práce vznikla za podpory výzkumného záměru VZ č. 253100002.

REAL-TIME PCR PRO KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ OBSAHU GMO VE VZORCÍCH POTRAVIN POMOCÍ PŘÍSTROJE LIGHTCYCLER

Ruttkay-Nedecký, B., Rohánková, L., Možná, M., Kučera, P.
Česká zemědělská a potravinářská inspekce, Brno
Krajský inspektorát v Brně, Oddělení biochemie a molekulární genetiky, Květná 15, 603 00 Brno,e-mail: obmg.bno@czpi.cz

Úvod:

Na pultech prodejen je možno od začátku roku vidět potraviny označené „ obsahuje GMO“ nebo „vyrobeno z GMO“. Znamená to, že se jedná o potraviny nového typu, mezi které patří i geneticky modifikované potraviny. Tyto potraviny byly vyrobeny z transgenních rostlin, do jejichž genomů byly zabudovány geny z jiných organismů, aby transgenní rostliny získaly vhodnější vlastnosti[1]. Zabudovaný gen je úsek DNA, podle kterého rostlina syntetizuje určitou bílkovinu. Tato bílkovina pak určuje charakteristickou vlastnost, jako je například rezistence k herbicidu.

Když je gen přenesen technikami moderní biotechnologie například z bakterie do sóji, vznikne transgenní sója, kterou nazýváme geneticky modifikovaná sója. Samozřejmě dlouho trvá, než se transgenní rostlina vyvine a než je ověřeno, zda je transgen v ní stabilně vložen. Také se musí prověřit zdravotní bezpečnost transgenní rostliny. Na našem trhu se nejvíce vyskytují Roundup-Ready sója a Bt-176 kukuřice.

Z legislativy týkající se GMO vyplývá od 1.1.2002 povinnost značení potravinářských výrobků obsahujících GMO nebo obsahujících transgenní DNA či protein v množství nad 1% složky potraviny. S touto povinností vzniká vedle detekce typu genetické modifikace i nutnost kvantifikace obsahu GMO v potravinách. K tomuto účelu slouží zejména metoda PCR v reálném čase (Real-Time PCR). Základem pro tuto metodu je klasická PCR, což je anglická zkratka pro polymerázovou řetězovou reakci[2]. Při PCR dochází k namnožení zvoleného úseku DNA, který je ohraničený dvěma primery. V počátečních cyklech PCR dochází až k exponenciální amplifikaci DNA. Obvykle se amplifikace ukončuje kolem 40-tého cyklu. Produkty PCR se nazývají amplikony a zviditelňují se pomocí elektroforézy. Klasickou PCR lze použít pouze pro kvalitativní analýzu, protože se hodnotí stav po ukončení PCR. V posledních cyklech PCR dochází k inhibici reakce konečnými produkty a nárůst koncentrace DNA není zdaleka exponenciální.

Naproti tomu při Real-Time PCR dochází k monitorování vznikajícího PCR produktu v průběhu celé reakce. Od počátku tohoto roku se na našem oddělení provádí kvantitativní stanovení GMO na přístroji Lightcycler. Monitorování PCR produktu je založeno na fluorimetrickém měření dvou hybridizačních sond s fluoroforem - sondy donorové a akceptorové. Intenzita signálu je úměrná počtu syntetizovaných amplikonů. Nárůst fluorescence v čase je znázorněn fluorescenční křivkou.

Při vlastní kvantifikaci se vzorky analyzují na dva geny. Jedním z nich je referenční gen, například lektinový gen u sóji a druhým je transgen. Obsah GMO ve složce potraviny se vypočítá z následujícího vzorce: % GMO ve složce = % transgenu x 100/ % referenčního genu.

Materiály a metody:

Pro zavedení metody kvantitativní PCR v reálném čase na přístroji Lightcycler byl použit kit firmy BIOTECON Diagnostics GmbH (foodproof Roundup Ready Soya), který obsahoval fluorescenční sondy (FRET) a primerový pár specifický pro sojový gen lektin a pro transgen Roundup-Ready[3]. Reakce byla optimalizována a testována při použití certifikovaných referenčních materiálů (IRRM FLUKA) s různým procentuelním

zastoupením Roundup Ready sóji (0%, 0,1%,0,5%,1%). DNA z referenčních materiálů byla izolována dvěma různými postupy.
První metodou bylo použití DNA izolačního a purifikačního kitu firmy BIOTECON Diagnostics GmbH (foodproof GMO Sample Preparation) a druhou metodou byla CTAB metoda[4]. DNA z každého referenčního materiálu byla izolována a analyzována v duplikátech.

Výsledky a diskuse:

Výsledky analýz duplikátů referenčních materiálů s různým obsahem RoundUp-Ready sóji od firmy FLUKA v případě, kdy se k izolaci DNA použil kit firmy Biotecon jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: *Kvantitativní Real-Time PCR analýza certifikovaných referenčních materiálů Roundup-Ready sóji na přístroji Lightcycler (izolace DNA - kitem Biotecon).*

Duplikáty extrakce	**RR-sója IRMM 410 (FLUKA)**		
	0.1%	**0.5%**	**1%**
1	0.036	0.46	0.87
2	0.054	0.32	0.69
průměr	**0.045**	**0.39**	**0.78**

Byly analyzovány referenční materiály s obsahem 0.1%, 0,5% a 1% RoundUp-Ready sóji. U všech referenčních materiálů jsme zaznamenali posun průměrných hodnot směrem dolů. Variační koeficienty u 0,5% a 1% referenčních materiálů se pohybovaly do 25 %, což lze považovat za vyhovující.

V případě, když se k izolaci DNA použila CTAB metoda, jsou výsledky analýz uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: *Kvantitativní Real-Time PCR analýza certifikovaných referenčních materiálů Roundup-Ready sóji na přístroji Lightcycler (izolace DNA – CTAB metodou).*

Duplikáty extrakce	**RR-sója IRMM 410 (FLUKA)**		
	0.1%	**0.5%**	**1%**
1	0.160	0.55	0.89
2	0.153	0.59	0.99
průměr	**0.157**	**0.57**	**0.94**

Podobně jako v předcházející analýze se použily referenční materiály s obsahem 0.1%, 0,5% a 1% RoundUp-Ready sóji. Výsledky se lépe shodovaly s udanými hodnotami referenčních materiálů jako u předcházející analýzy, kdy se k izolaci použil kit firmy Biotecon. Závěrem lze konstatovat, že oba postupy izolace DNA se hodí ke kvantitativní analýze

Real-Time PCR otvírá široké pole působnosti nejenom pro analýzu geneticky modifikovaných potravin ale také v oblasti falšování masa, v mikrobiologii a při analýzách potravinových alergenů.

Literatura:

1. Ondřej M., Drobník J., Kocourek F. : Rostlinolékař 1, 2 (2000)
2. Gachet E., Martin G., Vigneau F., Meyer G.:Trends in Food Science & Technology *9*, 380 (1999)
3. Fandke M., Schneider A., Grönewald C., Berghof-Jäger K.: Biochemica *2*, 12 (2002)
4. Zimmermann A., Lüthy J., Pauli U.:Z.Lebensm.Unters.Forsch. *207*, 81 (1998)

DÔKAZ SÓJE V MÄSOVÝCH VÝROBKOCH METÓDOU PCR A ANALÝZOU STEROLOV

Piknová Ľ., Štefanovičová A., Farkaš P., Kuchta T.
Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava

Rôzne rastlinné produkty sa pridávajú do mäsových výrobkov z viacerých dôvodov. Sójový proteín sa napríklad pridáva do párkov, aby sa zvýšila schopnosť viazať vodu a tuky, pre zlepšenie textúry výrobku a tiež ako emulgátor. Tento prídavok je však nevyhnutné vyznačiť na obale výrobku. Dôvodov je opäť viacero. Sú to zdravotné, ekonomické ale aj náboženské dôvody. Azda najdôležitejšie z hľadiska konzumenta je zdravotné hľadisko. Nezanedbateľný je aj ekonomický dopad, keď sa nahrádza drahšia surovina lacnejšou. V poslednej dobe je správne označovanie nevyhnutné aj v súvislosti s genetickými modifikáciami či s výskytom BSE. Nesprávne označené potraviny možno považovať za falšované.

Na zisťovanie nežiadúcich prídavkov v potravinách sa používajú aj rôzne molekulárno - biologické metódy. Sú založené na analýze proteínov alebo nukleových kyselín. Medzi metódy využívajúce proteíny patria hlavne imunochemické metódy, napr. ELISA a rôzne elektroforetické metódy.

Nukleové kyseliny, prítomné v potravinách, nemajú nutričnú hodnotu, ale identická DNA je prítomná v každom orgáne či časti organizmu, čo umožňuje získanie potrebnej informácie z rôznych častí vzorky. Ďalšie výhody použitia analýzy DNA v porovnaní s proteínovými technikami je termostabilita DNA, možnosť stanoviť stopové množstvá a detekcia aj v zmesných vzorkách.

V našej práci sme sa zamerali na stanovenie sóje v rôznych mäsových výrobkoch a využili sme metódu PCR. V pozitívnych vzorkách sme stanovili aj steroly (nezmydelniteľné lipidy – kampesterol, sitosterol) poukazujúce na prítomnosť sóje.

Ako citlivá, selektívna a rýchla metóda stanovenia sójovej zložky v mäsových výrobkoch sa ukázala PCR zameraná na lektínový gén Le 1 typický pre sójové zrná.

Analyzované mäsové výrobky boli vybraté tak, aby zahŕňali čo najširšiu bežne dostupnú škálu.

Postup analýzy bol nasledovný: najprv sme izolovali DNA z výrobku metódou Wizard. Potom sme overovali prítomnosť DNA z mäsa v PCR s primermi cyt b (úvodná denaturácia: 94 °C, 30 s; 35 cyklov: 94 °C ,5s; 50 °C, 30 s; 72 °C, 40s; záverečná polymerizácia: 72 °C, 3 min.) zameranými na mitochondriálny gén cytochrómu b stavovcov, čím sa dokázala správnosť izolácie DNA. Nasledovala PCR špecifická pre lektínový gén sóje s primermi GM 01,02, 03, 04 (úvodná denaturácia: 94 °C, 2 min; 35 cyklov: 94 °C, 30s; 63 °C (GM 01,02), 65 °C (GM 03, 04), 50 s; 72 °C, 80 s; záverečná polymerizácia: 72 °C, 5 min). Amplifikovali sa produkty s veľkosťou 414 bp (primery GM 01, 02) a 118 bp s primermi GM 03, 04.

Bol stanovený detekčný limit metódy 0,01 % sójovej múky v zmesi s bravčovým mäsom. Obrázky č. 1, 2 a 3 prezentujú elektroforetické záznamy dosiahnutých výsledkov analýzy vybratých vzoriek (3 rôzne druhy párkov, šunka a mäsová nátierka)

Nezmydelniteľné lipidy obsiahnuté v sóji sa extrahovali z pozitívnych vzoriek v PCR reakcii s GM primermi a analyzovali metódou GC - MS.

Spolu bolo analyzovaných metódou PCR 26 vzoriek, z ktorých 20 obsahovalo sóju, pričom iba 8 vzoriek bolo správne označených (viď tabuľku).

Literatúra:

1) Kuchta T., Farkaš P., Kováč M. (1998) Detection of soya in sausages by the analysis of sterols. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 207: 77-79.

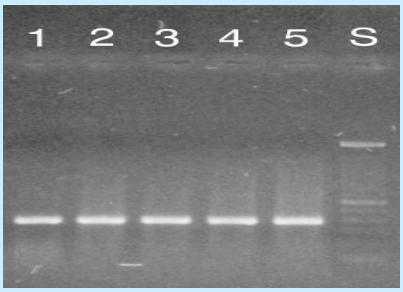
2) Piknová Ľ., Štefanovičová A., Farkaš P., Pangallo D., Kuchta T. (2002) Rivelazione di soia in prodotti di carne mediante PCR e analisi degli steroli. Industrie Alimentari, XLI : 163- 166.
3) Meyer R., Höfelein C., Lüthy J., Candrian U. (1995) Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: detection of soya in processed meat products. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 203: 339 - 344.

Obr.1

Analýza mäsových výrobkov PCR reakciou s primermi

cyt b1/b2

359 bp -



Vzorky: 1,2, 3 - párky

4 - šunka

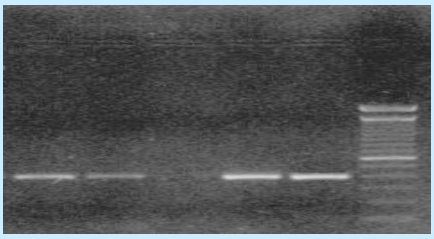
5 - mäsová nátierka

Obr.2

Elektroforetický záznam PCR reakcie s primermi

GM 01/02

414 bp -



1 2 3 4 5 S

Vzorky: 1, 2, 3 - párky

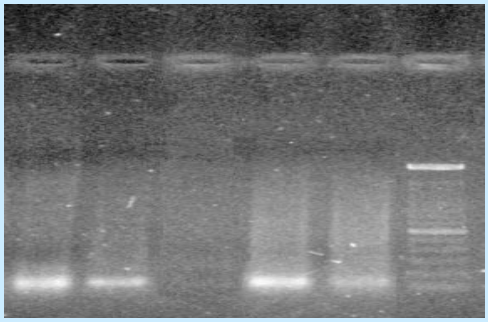
4 - šunka

5 - mäsová nátierka

Obr.3

Elektroforetický záznam PCR reakcie s primermi

GM 03/04



Vzorky: 1, 2, 3 - párky

4 - šunka

5 - mäsová nátierka

Tabuľka

Výsledky analýzy mäsových výrobkov

Matrica	Počet vzoriek	PCR - GM		GC - MS
		+	-	
Párky	8	7	1	7
Šunka	5	4	1	-
Salámy	5	4	1	-
Nátierky	8	5	3	-
Spolu	26	20	6	7
Označených vzoriek		8		

ÚLOHA VÝZKUMU A SOUČASNÝ STAV V OBLASTI ANALYTICKÝCH METOD PRO PRŮKAZ AUTENTICITY POTRAVIN

Bohačenko I., Špicner J., Kopicová Z.
Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10

Prokazování autenticity, resp. falšování potravin nabývá stále většího významu, o čemž svědčí i skutečnost, že jsou zakotveny v návrhu nového zákona o potravinách, připravovaného v rámci Evropské unie (viz REGULATION (EC) NO 178/2002 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL of 28 January 2002, Part: Laying down the general principles and requirements of food law, Article 8: Protection of consumers´ interests.). Hlavní důraz je v této souvislosti kladen na ochranu zájmů spotřebitele (resoluce OSN č. 39/248), ale dotýká se i vytváření férových podmínek obchodu s potravinami v evropském i celosvětovém měřítku.

Problematika autenticity potravin má komplexní charakter a zasahuje do oblastí výrobní, obchodní, kontrolní a legislativní. Nezastupitelná úloha výzkumné sféry pak spočívá ve

- výzkumu a vývoji analytických metod pro průkaz autenticity (falšování) potravin a potravinářských surovin, které jsou následně používány při kontrolní činnosti na všech úrovních, včetně uzavírání dodavatelsko-odběratelských vztahů;
- indikaci nových možností falšování jednotlivých potravinářských komodit, která vychází a navazuje na nové poznatky v široké oblasti cíleného výzkumu jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin.

Metodika

Jako kritérium současného stavu a trendů vývoje analytických metod pro průkazy autenticity (falšování) potravin byla zvolena publikační aktivita v této oblasti, zpracovaná ve VÚP Praha na základě databáze FSTA. Za posledních 11 let (1990-2001/10) bylo nalezeno cca 900 citací o metodách, které jsou buď přímo určeny nebo mohou být použity pro průkaz autenticity potravin. Tyto metody byly rozděleny do čtyř základních skupin a jedenácti podskupin, ve kterých byly zjišťovány počty citací v jednotlivých letech..

Nalezeny byly i citace o metodách, jejichž počet v daném časovém období byl menší než 20 a nebyly do hodnocení zahrnuty (např. polarografické, senzorické, obrazová analýza apod.).

Ze stejného informačního zdroje byl vypracován i přehled základních znaků (parametrů), které jsou nejvíce sledovány při průkazu autenticity, resp. falšování vybraných potravinářských komodit.

Diskuse výsledků

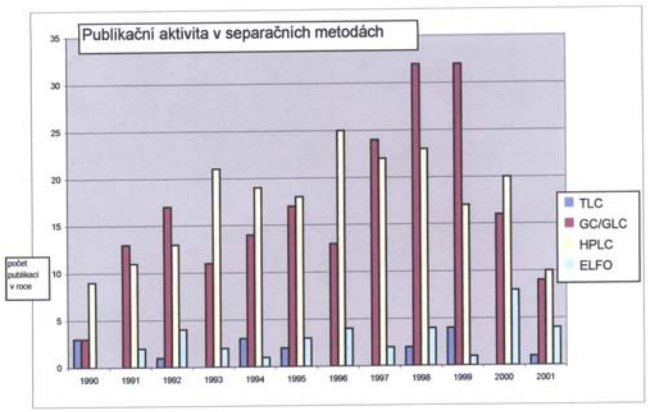
I když jsme si vědomi toho, že při hodnocení dle publikační aktivity je pouze relativně malá část citovaných metod po mezinárodní, resp. národní standardisaci postupně přebírána jako závazná např. do příslušných komoditních Vyhlášek, Codexu Alimetarius, AOAC nebo Code of Practice, může být na základě literárních odkazů dost dobře vytypován zájem výzkumné sféry o jednotlivé typy metod. Současně však upozorňujeme na to, že hodnoty pro roky 2000 a 2001 nebyly v době zpracování plně representativní, neboť citace z těchto let nemusely být ještě kompletně zachyceny v databázi FSTA.

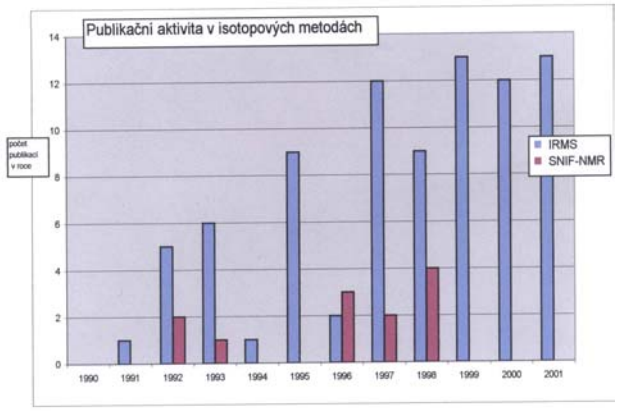
Při hodnocení podle celkového počtu citací byly nejvíce zastoupeny metody separační (460), z nichž stále dominují GC (201) a HPLC (208). Metody TLC a elektroforetické jsou zastoupeny podstatně méně (16, resp. 35). Počet citací o spektrofotometrických a molekulárně biologických metodách je prakticky stejný (147, resp. 150). Ze spektrálních

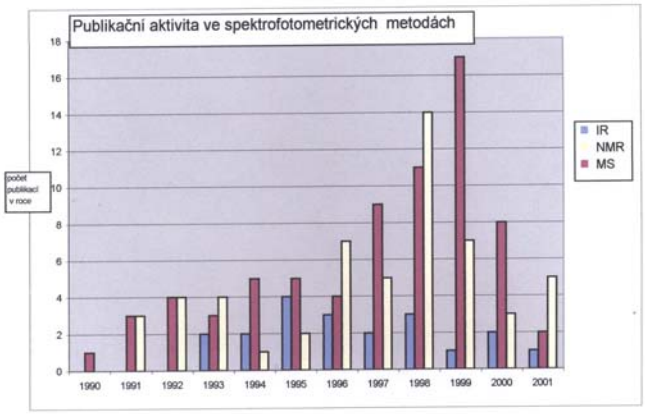
metod jsou nejvíce využívány MS (72) a NMR (55), méně pak IR (20, především NIR a FTIR). Imunologické metody a PCR mají stejný počet nalezených odkazů (35). Nejméně jsou zastoupeny isotopové metody (95), z nichž podstatnou část tvoří IRMS (83) a dále SNIF-NMR (12).

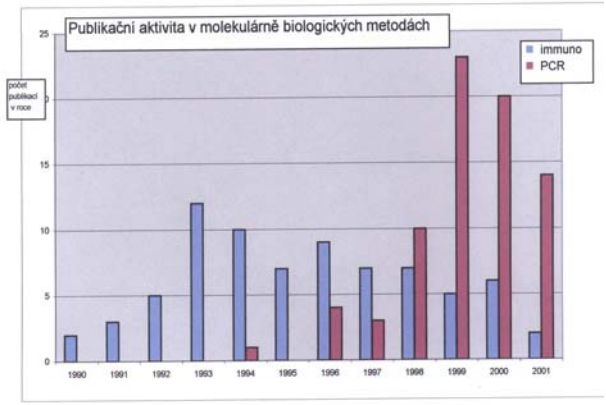
Zcela jiná je však situace jestliže sledujeme trendy počtu citací metod v jednotlivých letech. U separačních a spektrofotometrických metod je patrný vzrůst zastoupení od roku 1990, který kulminuje v roce 1998. Od této doby lze očekávat stagnaci, popř. i mírný pokles. Obdobné trendy lze zaznamenat i u jednotlivých analytických technik s výjimkou elektroforetických metod, kde lze naopak očekávat mírný vzestup v letech 2000-2001. Isotopové metody mají od počátku sledovaného období trvalý mírně vzestupný trend, který by měl pokračovat i v letech 2000-2001. Na něm se nejvíce podílí technika IRMS. Nejvyšší vzestup vykazují molekulárně biologické metody, podstatně se na něm podílí rozšiřování techniky PCR. Počet citací o imunologických metodách, kulminující v letech 1993-1994, nyní stagnuje, popř. se může i snižovat.

Pokud se týká přehledu základních znaků (parametrů) sledovaných při průkazu autenticity potravin a potravinářských surovin, má především informativní charakter a ponecháváme jej bez komentáře. Sledované znaky u uvedených potravinářských komodit jsou totiž definovány co nejobecněji a nemusí být vyčerpávající. Bližší podrobnosti o konkrétních případech lze nalézt v databázi zpracované ve VÚP Praha.









Přehled základních znaků při průkazu autenticity, resp. falšování potravin

Výrobky z ovoce a zeleniny

Džusy, nektary, pyré

- Záměna země původu
- Rekonstituce koncentrátů na sušinu nižší než povolenou.
- Nedeklarovaný přídavek cukru nebo jiných druhů ovoce.
- Přídavek vody do džusů deklarovaných jako čerstvě lisované nebo nepoužívající koncentráty.
- Nepovolený přídavek extraktu ze slupek nebo dužniny.
- Nedeklarovaný přídavek organických kyselin, barev a aromat.
- Užití nepovolených aditiv.
- Nepravdivé údaje o obsahu komponent ve smíšených džusech z různých druhů ovoce

Džemy, želé a ovocné pomazánky

- Nepovolený poměr ovoce/cukr.
- Nepovolený přídavek cukru, sirupů a vody do ovocných džemů a pyré.
- Nepravdivé označení druhů ovoce

Med

- Záměna zeměpisného a botanického původu.
- Záměnu druhu medu (květový, smíšený, medovicový).
- Přídavek cukru nebo cukerných či škrobových hydrolysátů.
-

Tuky a oleje

Kakaové máslo

- Záměna zeměpisného původu a odrůdy.
- Nadlimitní přídavek ekvivalentů kakaového másla.
- Přídavek levnějších tuků.

Rybí oleje

- Přídavek levnějších olejů do drahých rybích olejů.
- Nedodržení uvedeného obsahu Ω-3 nenasycených mastných kyselin, vitaminů a jiných komponent.

Olivový olej

- Záměna zeměpisného původu.
- Záměna výrobního postupu (rafinovaný, panenský).
- Přídavek rafinovaného oleje do oleje panenského.
- Přídavek levnějších rostlinných olejů.

Další rostlinné oleje

- Záměna zeměpisného původu.
- Záměna výrobního postupu vč. skladování.
- Přídavek levnějších olejů do dražších (např. sojového a řepkového do slunečnicového).
- Oleje z geneticky modifikovaných odrůd.

Cereálie

Pšenice

- Přídavek méně kvaltiních a levnějších odrůd do mouk pro pekařské, těstárenské, cukrárenské popř. jiné použití.
- Přídavek levného sladového šrotu do mouk.
- Přítomnost geneticky modifikovaných odrůd.

Ječmen

- Přídavek méně kvalitních a levnějších odrůd pro výrobu sladu (piva) a speciálních druhů whisky.

Rýže

- Záměna zeměpisného původu a odrůdy.

Kukuřice

- Záměna zeměpisného původu a odrůdy.
- Přítomnost geneticky modifikovaných odrůd.

Mléčné výrobky

Mléko

- Záměna druhu (kravské, kozí, ovčí apod.).
- Přídavek nemléčných tuků a proteinů.
- Nedodržení výrobního postupu (zvláště způsobu tepelného ošetření).

Sýry

- Nedodržení výrobního postupu.
- Přídavek kravského mléka do kozích a ovčích sýrů.

Kysané výrobky

- Nedodržení výrobního postupu.
- Použití nestandardních kultur, surovin a aditiv.

Máslo

- Přídavek nemléčných tuků.
- Nepovolený přídavek vodovazných aditiv.

Maso a masné výrobky

- Záměna druhu a zeměpisného původu.
- Nesprávná deklarace chovu zvířat (volně žijící, chované na farmách).
- Záměna drahého masa levnějším v mletých či jinak upravených výrobcích.
- Nedeklarované přídavky masa ze separátorů kostí.
- Nepovolené přídavky vody a vodovazných aditiv.
- Nadlimitní přídavek náhražek masných proteinů (krev, plasma, mléko, rostlinné bílkoviny).
- Přídavky nepovolených konzervačních a růstových látek.

Ryby a výrobky z ryb

- Záměna druhu a zeměpisného původu.
- Nedodržení výrobního procesu (např. čerstvé – mražené – rozmražené).
- Záměna deklarace způsobu chovu (volně žijící, chované na farmách).
- Verifikace tepelného opracování.
- Nedeklarovaný, resp. nadlimitní přídavek stabilisátorů a vodovazných aditiv.

Káva včetně instantní

- Záměna země a oblasti původu.
- Nesprávná deklarace druhového složení.
- Přídavek nepovolených příměsí.

AUTENTICITA KEČUPŮ – ZMĚNY VYBRANÝCH SLOŽEK BĚHEM VÝROBY A DISTRIBUCE

Skálová P., Soukupová V., Voldřich M., Kvasnička F., Krátká J.
Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Souhrn. Nejčastějším způsobem porušování autenticity rajčatových kečupů je nedodržení obsahu rajčatového podílu ve výrobku. Vyhláška č. 332/1997 zákona č. 110/1997 (v platném znění, zák. 306/2000 a vyhl. 92/2000) udává minimálně 7% podíl rajčatové sušiny v kečupu, jehož minimální celkový obsah refraktometrické sušiny musí být 25%. Pro výrobky označené jako Prima, Extra, Special jsou tyto požadavky 10 a 30%. Z dosud analyzovaných souborů vzorků kečupů běžně dostupných na českém trhu (včetně dvou souborů se známým obsahem rajčatového podílu v rozmezí 3 až 15%) byla navržena metoda odhadu rajčatového podílu vycházející z analýz některých chemických markerů (lykopen, β-karoten, pyroglutamová kyselina, kyselina citrónová a jablečná, K+, formolové číslo, refrakce). Navzdory omezenému počtu kalibračních vzorků je možné odhalit falšované výrobky se sníženým obsahem rajčatové sušiny o více než 1,25%. Některé z těchto markerů se ale mohou během výroby a distribuce měnit, proto je nezbytné zjistit jak může hodnoty ovlivnit např. různé tepelné namáhání suroviny, skladování za různých teplot apod. Intenzitou a délkou záhřevu mohou být nejvýrazněji ovlivněny obsahy lykopenu, β-karotenu (oxidace, izomerace) a pyroglutamové kyseliny (tvorba během záhřevu z glutaminu a kyseliny glutamové). Z dosavadních výsledků je možné usuzovat, že při výrobě protlaků technologií hot break (90 – 95°C) je ve finálním produktu maximální možné množství PCA. Za těchto podmínek obsah PCA významně koreluje s množstvím rajčatového podílu v kečupech a je tedy možné jej využít jako jedno z kritérií pro odhad rajčatového podílu ve výrobku.

Úvod

Požadavky na fyzikální a chemické vlastnosti výrobků z rajčat jsou definovány vyhláškou 332/1997 zákona č 110/1997 (v platném znění tj. vyhl 92/2000 k zákonu č. 306/2000) o potravinách a tabákových výrobcích. Minimální obsah rozpustné sušiny je 25% pro kečup a 30% pro kečup značený jako Prima, Extra, Special; minimální obsah NTSS (Natural tomato Soluble Solids) musí být 7 a 10%. Obsah rajčatového podílu je definován dobře a jednoznačně, ale v současnosti neexistuje žádný právní základ, který by vedl k dodržování požadavků na kvalitu výrobků. Výrobci jsou také pod tlakem velkých distribučních řetězců a vyrábí levnější produkty s nižším rajčatovým podílem. Dalším faktorem ovlivňujícím současnou situaci je fakt, že konzumenti dávají stále přednost spíše nízké ceně výrobku než jeho kvalitě.

Nejjednodušším způsobem falšování kečupů je snížení NTSS a jeho náhrada přídavkem hydrokoloidů (obvykle modifikovaných škrobů) a sacharózy. Novelizovaná vyhláška č. 298 nepovoluje použití barviv, ale vzhledem k tomu, že kečupy s přídavkem škrobů jsou světlé, využívají proto někteří výrobci pro přibarvení např. extrakty papriky, červenou řepu apod.

Podle analýz souboru jednotlivých chemických markerů a jejich citlivého posouzení ve vztahu k hodnotám typickým pro rajčatové pyré je možné odhalit výrobky se sníženým obsahem NTSS o více než 1,25%.

Materiál a metody

Vzorky analyzované v letech 1998 – 2000

- *České výrobky*

Ketchup Otma jemný, Kečup gurmán jemný, Speciál kečup jemný, Kečup gurmánek (Otma), Tesco kečup jemný, Ketchup sladký Extra, Kečup jemný - Lev-ně, kečup jemný (Hochman) (Kand a.s.), Kečup sladký (Vitana a.s.), Tomato ketchup jemný, Ketchup jemný Gourment (Spak CR), Klasik kečup, Baby kečup, Sladký kečup, Jemný kečup (Hamé a.s), Kečup

jemný, Kečup de Luxe jemný (Neli), Kečup jemný (Albert), Jemný kečup (Koruna) (Ahold CR), Tomaten ketchup (Valfrutta), Kečup klasik (Boneco a.s.), Jemný kečup (ZEST)

● *Zahraniční výrobky*

Rajčatový kečup (Valfruta - Conserve Italy), Kečup jemný (Louis Martin – France), Tomaten ketchup jemný kečup (Felix - Austria), Tomato ketchup (Amora – France), Kečup jemný (Gyma – Germany), Tomato ketchup (Heinz - Hungary), Ketchup (Roleski – Poland)

Tabulka I Analyzované markery:

Na, Ca, Mg, K	Kapilární izotachoforéza
glukóza, fruktóza, sacharóza, sorbitol	HPLC
kyselina citrónová, jablečná	Kapilární izotachoforéza
lykopen a β-karoten	HPLC
pyroglutamová kyselina - PCA	HPLC
formolové číslo	Titračně podle RSK
refraktometrická sušina	Digitální refraktometr

Odhad obsahu NTSS podle chemického složení

Kalibrační soubor (18 vzorků o známém NTSS) byl statisticky zpracován metodou multiregresní analýzy. Statisticky významné korelační koeficienty (> 0,84) byly získány pro následující chemické markery: PCA, K, Ca, Mg, kyselina citrónová a jablečná a formolové číslo. Vzhledem k faktu, že obsah Ca a Mg může významně záviset na vodě použité k výrobě kečupu, nejsou tyto parametry pro odhad používány. Naopak jako další pomocné kritérium byl zvolen obsah lykopenu a β-karotenu a měření barvy (L, a, b). Z kalibračních rovnic jednotlivých významných markerů a posouzením výsledků porovnáním s hodnotami typickými pro rajčatové pyré je možné odhadnout podíl NTSS s přesností asi 1,25%.

Hlavními faktory, které mohou odhad NTSS ovlivňovat jsou především: variabilita suroviny; změny během výroby a skladování (tvorba PCA, degradace karotenoidů, atd.); vzorkování, analytické metody a v neposlední řadě také receptura výrobků (přídavek kyselin, cukrů, přídavek jiného ovoce a zeleniny).

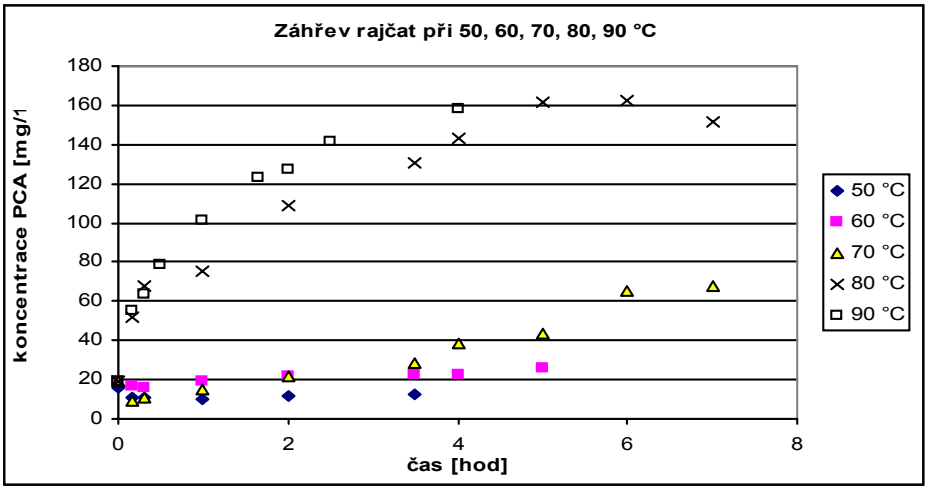
PCA (kyselina pyroglutamová, 2-pyrrolidon-5-karboxylová kyselina,
DL-5-oxo-2 pyrrolidonkarboxylová kyselina, laktam kyseliny glutamové)

Její obsah v čerstvé zelenině a ovoci je velmi malý nebo nulový; vzniká termickou reakcí při zpracování potravin (z kyseliny glutamové a glutaminu). Vytvořená PCA je velmi stabilní a její obsah může sloužit jako kvalitativní index u výrobků z rajčat.

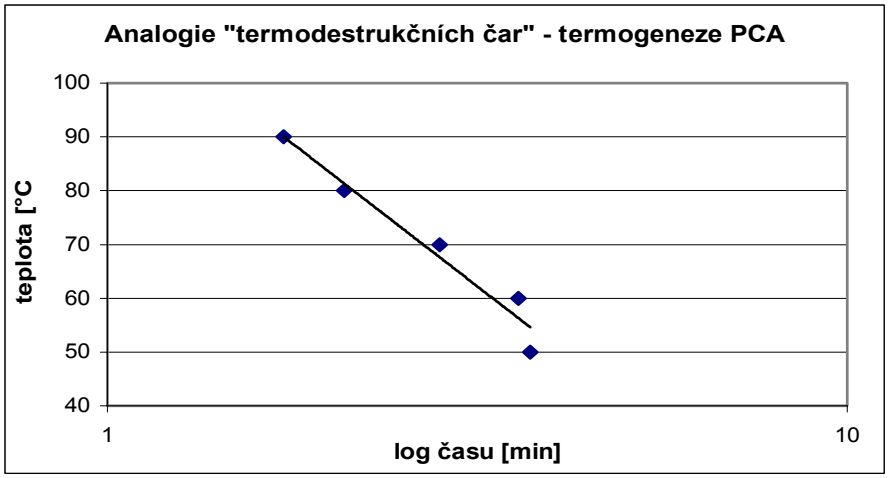
Výsledky a diskuse

Ověření správnosti používání některých markerů

Byly provedeny modelové pokusy záhřevem rajčat, z průběhů křivek nárůstu koncentrace PCA (Obr. 1) byla pro dobu nárůstu koncentrace PCA o dva řády (z 0 na 100 mg/kg) sestrojena „křivka tvorby PCA“ (obr. 2). V závislosti na způsobu zpracování získaných dat se vypočtené hodnoty pohybují v rozmezí: z = 12 -18,6 °C, $2D_{100}$ = 8 - 16 minut. Z uvedených dat je zřejmé, že k vytvoření 100 mg PCA /kg (přepočteno na refrakci rajčat) je zapotřebí tepelného namáhání rajčat, protlaku, kečupu, které odpovídá ekvivalentu záhřevu 8 - 16 minut při 100 °C. Z tabulky II je zřejmé, že kumulativní C_{100} pro všechny operace kromě skladování sterilovaného protlaku je 19,3 minuty. Ve většině případů je prodleva mezi výrobou a skladováním sterilovaného asepticky plněného kečupu taková, že je vytvořeno 100 % možné koncentrace PCA. V případě výroby kečupu ze syrových rajčat, mražených surovin, nebo od výrobce, který je zároveň producentem protlaku, může být hodnota PCA nižší a parametr nemusí být spolehlivý.



Obrázek 1 Změny koncentrace PCA při záhřevu rajčat



Obrázek 2 Křivka tvorby PCA

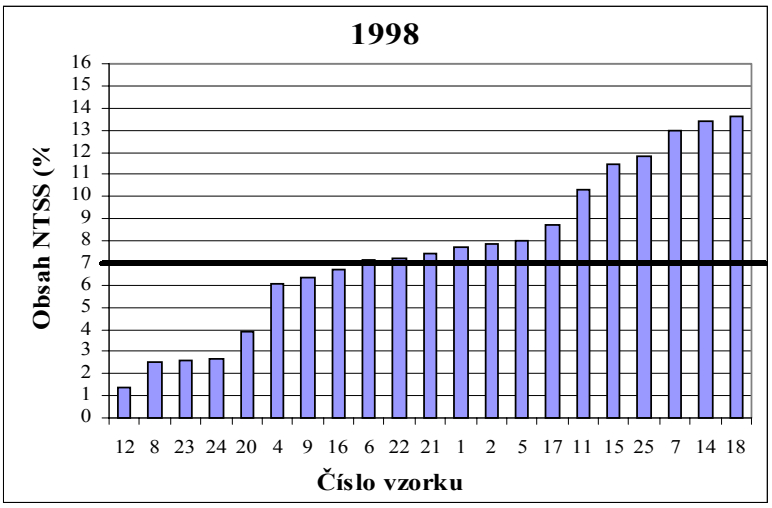
Tabulka II Teploty a doby záhřevu při zpracování rajčat

Operace	Teplota	Doba	Cooking value C [min]
Skladování přivezené suroviny	do 15 °C	do 1440 min	0,04
	0-5 °C	do 10 dnů (14400 min)	0,11
Hot-brake	90 °C	1 min	0,29
	82-94 °C	0,25 min	0,12
	65-90 °C	Minuty (10)	2,89
Cold brake	20-30 °C	Hodiny (5)	0,05
Koncentrace	82-84 °C 45 °C termodynamický dvojčlen-tři odparky	5-10 min 5-10 min	1,37 0,01

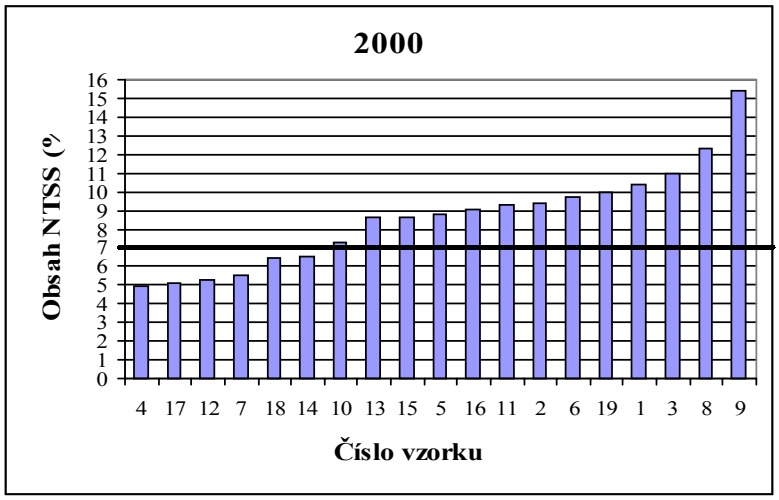
Konzervace	sterilátor kašovitých hmot 90°C	5-10	2,89
	sterilace v obalu 90 °C	5-10	2,89
Skladování	do 30 °C	max.1 rok	88,94
Výroba kečupu	míchání 50 °C, povaření za vakua 65 °C, záhřev 90 °C, deaerace 90 °C	½ hodiny	8,68

Situace na českém trhu

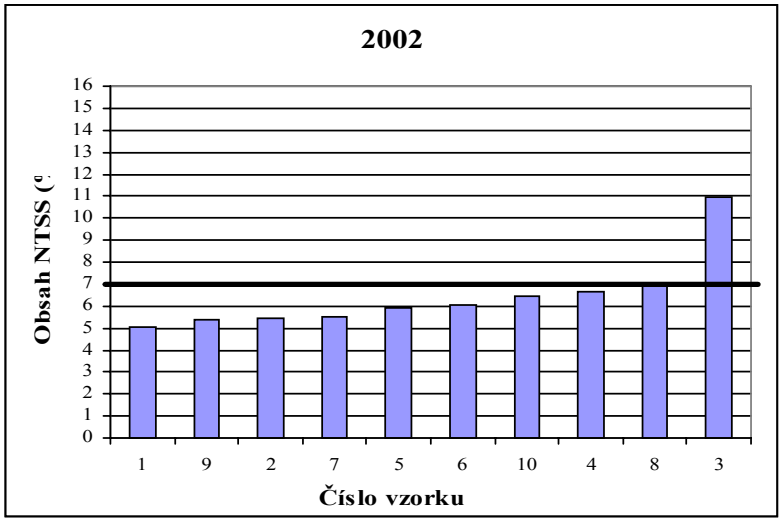
V rámci projektu je sledován také vývoj situace na českém trhu. Ze srovnání obsahů NTSS ve vzorcích kečupů analyzovaných v letech 1998, 2000 a 2002 vyplývá:



V roce 1998 bylo více vzorků (asi 30%) podezřelých z falšování a některé z nich dokonce s velmi výrazným snížením obsahu NTSS (méně než 3%). Také zastoupení výrobců produkujících tyto falšované výrobky bylo vyšší a včetně některých zahraničních výrobců (např. Polsko)



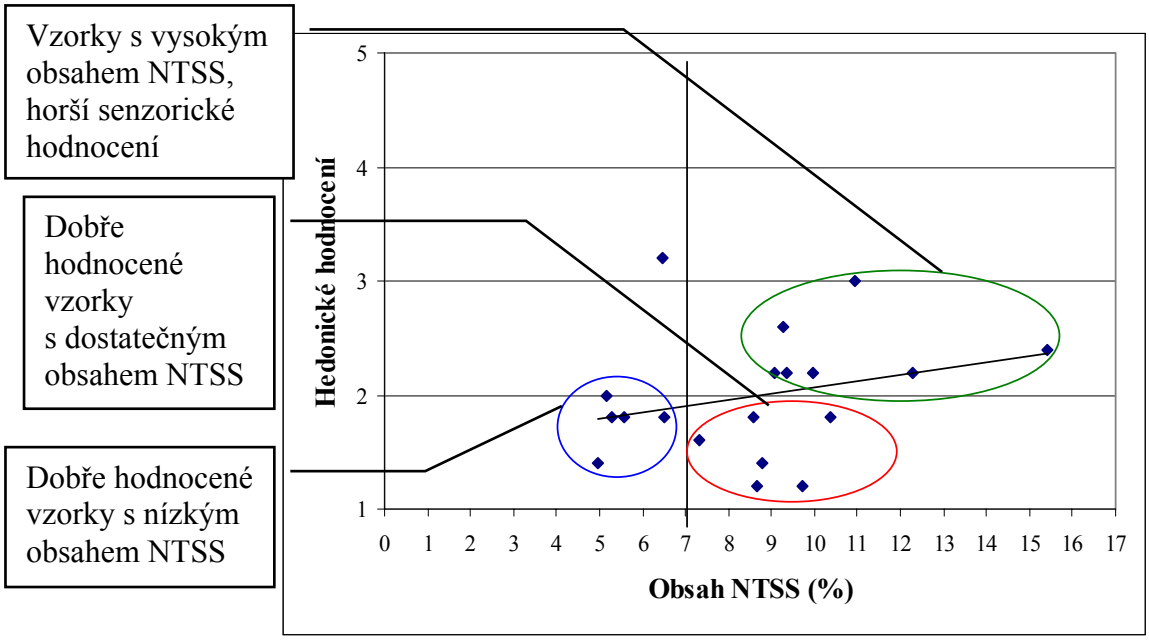
Rok 2000 můžeme charakterizovat celkovým zlepšením tohoto trendu; falšovaných výrobků bylo méně, převážně v nižších cenových kategoriích a pouze od dvou výrobců. Ve srovnání s rokem 1998 můžeme sledovat také vzrůstající obsah NTSS.



V roce 2002 byl analyzován menší soubor než v předchozích letech; počet podezřelých vzorků je stejný jako v roce 2000, relativně k velikosti souboru vyšší. Přibylo vzorků v „šedé“ zóně (hodnoty v rozmezí 5,75 – 7% NTSS, které je určeno jako chyba metody odhadu).

Obrázek 3 Porovnání obsahu NTSS v souborech vzorků z českého trhu v letech 1998, 2000, 2002

Zajímavým aspektem je srovnání obsahu NTSS a senzorického hodnocení kečupů konzumenty. Z vyhodnocení těchto výsledků (Obr. 4) vyplývá, že vzorky s nižším obsahem NTSS jsou konzumenty senzoricky preferovány před některými vzorky splňujícími vyhlášku (obsah rajčatové sušiny minimálně 7%). Tento jev je pravděpodobně způsoben tím, že falšované výrobky jsou díky přídavku hydrokoloidů a cukru jemnější a sladší.



Obrázek 4 Porovnání obsahu NTSS versus senzorické hodnocení

* Hedonický vjem byl hodnocen 5-ti bodovou stupnicí, **1** – typický kečup výborné chuti a konzistence, **5** – nepřijatelný výrobek
* Senzorická analýza byla provedena ve spolupráci s Ústavem chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha

Literatura

Hayes, W.A., Smith, P.G., Morris, A.E.J.: CRC Reviews in Food Science and Nutrition, **38**, 537 - 564, 1998

Ottender, H.: Dtsch. Lebensm.-Rundsch. **79**, 14 - 18, 1986

Ottender, H.: Obst.-und Gemüsseverwertung, **7**, 173 - 178, 1975

Schräder, I., Eichner, K.: Lebensm.- Unters.- Forsch., **202**, 474 - 480. 1996

VdF Association of the German Fruit Juice Industry. RSK Values, the Complete Manual, Guide Values and Ranges of Specific Numbers, Including the Revised Methods of Analysis, Verlag Flüssiges Obst GmbH, 1987

Vyhláška MZe č. 323/1997 Sb. (v platném znění vyhl. 92/2000 Sb.)

PRŮKAZ FALŠOVÁNÍ ČERVENÝCH VÍN POMOCÍ ANTHOKYANŮ RŮZNÉHO PŮVODU

Vošmerová D.[1], Vespalcová M.[2], Mikušová R.[2], Suský J.[1]
1-Česká zemědělská a potravinářská inspekce Brno,Květná 15, 603 00 Brno
2-Ústav chemie potravin a biotechnologii, VUT Brno, Purkyňova 118, 612 00 Brno

Na našem trhu se setkáváme s falšováním červeného vína. Jedním ze znaků „falšování“ je dobarvování červeného vína červenými barvivy. Dříve se nejčastěji k falšování vína používala syntetická barviva azorubin, ponceau 4R apod., která však jsou snadno odhalitelná metodou TLC. V dnešní době tito „falšovatelé“ začínají používat přírodní extrakty označené E163 anthokyany, které už není tak jednoduché prokázat.

Zákon o vinohradnictví a vinařství č. 115/1995Sb. ve znění Zákona č. 216/2000Sb. v § 11 „Omezení při výrobě a uvádění vína do oběhu“ zakazuje pod písmenem h) v bodě 2. „používat syntetická a přírodní barviva, s vyjímkou červeného barviva z modrých hroznů révy vinné“. Bylo tedy nutné v rámci laboratorních kontrol prováděných Českou zemědělskou a potravinářskou inspekcí zavést metodu stanovení původu anthokyanů.

Každá rostlina má svoje typické anthokyany. Pigmenty modrých odrůd vinné révy (Vitis vinifera) jsou hlavně 3–monoglykosidy. Nejčastějšími anthokyany ve víně jsou malvidin, kyanidin, peonidin, petunidin a delfinidin. [1] Převládajícím barvivem ve víně pak je malvidin–3–β–D–glukosid.

U bezu černého (Sambucus nigra) jsou typickými zástupci anthokyanů kyanidin-3-sambubiosid-5-glukosid a kyanidin-3-sambubiosid. [2]

Dalším zdrojem anthokyanů při jejich průmyslové výrobě je u nás málo známý druh černé mrkve (Daucus carota). Anthokyany z této kořenové zeleniny jsou převážně sloučeniny aglykonu kyanidinu a sacharidových složek, které podle dostupných údajů od výrobce tvoří glukosa, galaktosa, xylosa a kyselina sinapová.

Cílem práce bylo vybrat ze známých HPLC metod, popsaných v odborné literatuře[2,3], nejvhodnější metodu pro stanovení anthokyanů a upravit ji pro konkrétní podmínky a potřeby laboratoře ČZPI v Brně.

Mezi hlavní požadavky na novou metodu patřilo průkazné rozlišení anthokyanů, které jsou vínu vlastní od anthokyanů přidaných barvícími přípravky, které jsou vyráběny z jiných plodin. Současně musela být vytvořena knihovna chromatogramů referenčních vzorků a knihovna spekter jednotlivých anthokyanů. V závěrečné fázi vývoje metody byl proveden screening našeho trhu s vínem, na kterém byla ověřena její vhodnost pro rutinní používání v laboratoři ČZPI.

<u>Chromatografické podmínky</u>

Chromatografická kolona: SUPELCOSIL LC-18DB,
250x4,6mm, 5μm
Předkolona: HYPERSIL BDS C-18, (7,5 × 4,6 mm, 5μm)
Nástřik: 30ul
Detekce: PDA , λ=520 nm
Teplota : 40°C
Mobilní fáze: Roztok A: 20 % methanol + kyselina chloristá
Roztok B: 80 % methanol + kyselina chloristá
c ($HClO_4$) = 0,0251 mol.l^{-1}
pH roztoků je přibližně 1,6

Popis gradientu:

Čas (min)	průtok ($ml.min^{-1}$)	množství roztoku B (%)
0	0,7	20
0 - 20	0,7	40
20 - 35	0,7	70
35 - 36	1	80
36 - 46	1	80

Referenční vzorky

Jako referenční materiál byla použita čistá odrůdová vína od vybraných výrobců z různých oblastí. Šťávy z bezu černého byly vyrobeny v laboratoři z vlastní sklizně. Vlastní extrakty z kořenové zeleniny Daucus carota nebylo možné v laboratoři vyrobit, neboť se nám nepodařilo získat surovinu. Proto byly použity pouze zakoupené komerční extrakty, u nichž výrobce deklaruje původ certifikátem.

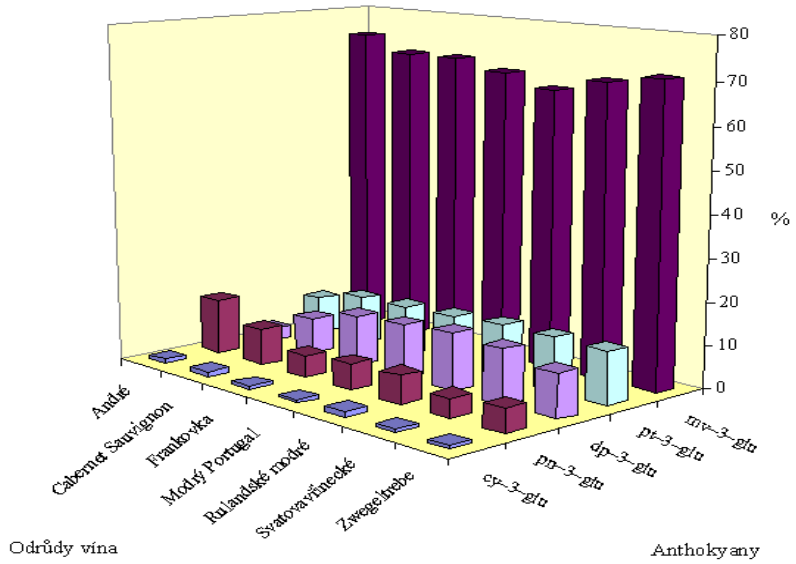
Výsledky a diskuse

Pro komerční nedostupnost čistých standardních látek byly anthokyany nalezené ve víně identifikovány porovnáním retenčních časů jednotlivých píků s retenčními časy anthokyanů analyzovaných dříve na jiných pracovištích za stejných podmínek. [2,3] Dále bylo k identifikaci jednotlivých anthokyanů využito spektrálních vlastností každého z analytů, existence skutečnosti, že z kolony eluují v závislosti na polaritě molekuly a také vědomostí o poměrném zastoupení jednotlivých anthokyanů ve víně dle literatury. [1]

Nejprve eluují anthokyany obsahující molekuly tri- a disacharidů. Poté následují anthokyany vázané s monosacharidy a nakonec acylované a kumarilované anthokyany s monosacharidy. V rámci skupiny píků od jednoho cukerného zbytku je vždy dodrženo pořadí eluce dle polarity jednotlivých aglykonů, a to delfinidín, kyanidín, petunidín, peonidín a malvidín. [3]

Při výpočtu relativního množství jednotlivých anthokyanů ve vzorku bylo využito ploch píků. Byly sečteny pouze plochy píků odpovídající jednotlivým identifikovaným anthokyanům a tento součet byl označen jako celková plocha, ze které pak bylo vypočteno relativní množství.

Výsledky získané proměřením referenčních vzorků odrůdových vín jsou uvedeny v grafu, který obsahuje procentuální zastoupení jednotlivých sledovaných anthokyanů v každé z uvedených odrůd červeného vína.



Všechny chromatogramy referenčních vzorků odrůdových vín a extraktů vyrobených z modrých odrůd révy vinné obsahují shodné anthokyanové zastoupení.

Přídavek vlastních i komerčních extraktů, které byly vyrobeny z modrých odrůd révy vinné nelze ve víně touto metodou prokázat. O vínech obarvených těmito extrakty lze jen říci, že mají výraznější anthokyanové zastoupení. Barvení vína těmito extrakty také není v rozporu Zákonem o vinohradnictví a vinařství č. 115/1995 Sb. ve znění zákona č. 216/2000Sb.

Extrakty vyrobené z bezu černého měly na chromatogramech píky odpovídající anthokyanům typickým pro bez černý (kyanidin-3-sambubiosid-5-glukosid a kyanidin-3-sambubiosid).

Typické bezové anthokyany lze ve víně jednoznačně prokázat až do ředění 1:100 u vlastních extraktů a 1:1000 u komerčního zahuštěného preparátu.

V žádném referenčním vzorku odrůdového vína se „bezové“ anthokyany původně nevyskytovaly. Z toho vyplývá, že kyanidin-3-sambubiosid-5-glukosid a kyanidin-3-sambubiosid mohou být spolehlivě používány jako vhodný marker pro posouzení falšování vína.

Extrakty vyrobené dle údajů od výrobce z kořenové zeleniny Daucus carota se na chromatogramech projevovaly pěti výraznými píky, které se v žádném z referenčních vzorků odrůdových vín nevyskytovaly. Z tohoto důvodu bylo opět možné je použít jako markery pro falšování vína, aniž by bylo nutno znát jejich přesné chemické složení.

Metoda byla ověřena na reálných vzorcích červeného vína a v závěrečné fázi pak byl proveden screening našeho trhu s vínem, na kterém byla ověřena vhodnost metody pro rutinní používání v laboratoři ČZPI.

Tento screening nebyl součástí kontrolních aktivit ČZPI a jeho výsledky slouží pouze k laboratorním účelům při zavádění nové metody.

Celkem bylo zanalyzováno 60 vzorků tuzemských i dovozových vín. 52 vzorků vín bylo shodnoceno jako vyhovující z pohledu falšování. Netypické anthokyany pro révu vinnou obsahovalo celkem 5 vzorků, z toho ve třech vzorcích byly nalezeny anthokyany odpovídající zelenině Daucus carota a ve dvou anthokyany odpovídající bezu černému. Zbylé 3 vzorky byly obarveny synteticky.

Průzkum českého trhu s vínem		
Vzorky	Počet vzorků	%
Vzorky vína s přídavkem syntetictých barviv	3	5
Vzorky vína s přídavkem bezu černého	2	3
Vzorky vína s přídavkem zeleniny (Daucus carota)	3	5
Nepřibarvované vzorky	52	87
Celkem vzorků s přídavkem barviv	8	13
Celkem všech vzorků	60	100

Pro tuto metodu byla vypracována knihovna spekter jednotlivých anthokyanů, která při rutinním používání sloužila k potvrzení identifikace původu jednotlivých anthokyanů.

Popsaná HPLC metoda byla prozatím shledána jako vyhovující pro rutinní použití v laboratoři ČZPI Brno pro prokazování falšování vín cizími anthokyany. Do budoucna bude nutno u této metody vylepšit přípravu vzorků před nástřikem do chromatografu, aby vlivem velkého objemu analyzovaného materiálu nedocházelo ke zvýšenému zadržování pomalu se eluujících složek vína uvnitř kolony.

Literatura:

[1] Farkaš J.: Biotechnologia vína, 2. upravené vydání, ALFA Bratislava 1983.
[2] Bridle P., Garcia-Viguera C.: A simple technique for the detection of red wine adulteration with elderberry pigment. *Food Chemistry,* 55: (2) p. 111 – 113 (1996)
[3] Škvařilová D.: Stanovení přírodních barviv, diplomová práce, Chemická fakulta, VUT Brno 1997.

HODNOTENIE KVALITY OVOCNÝCH ŠTIAV A NEKTÁROV PODĽA VYBRANÝCH MARKEROV AUTENTICITY

Lacko Ľ., Suhaj M., Belajová E.
Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava
E- mail: lacko@vup.sk, milan.suhaj@vup.sk , elena.belajova@vup.sk

Úvod

Ochrana spotrebiteľa si vyžaduje neustály výskum analytických metód kontroly kvality autenticity potravín. V oblasti ovocných štiav môže ísť o testovanie vody , cukru, ovocných náhrad a aditív ako sú sekundárne extrakty z ovocnej dužiny, alebo iné lacnejšie alternatívy.

Zloženie ovocných štiav a nektárov je definované vo všeobecných predpisoch v Council Directive 93/77EEC z 21. sept. 1993 [1]. Univerzálne kritéria pre autenticitu a kvalitu ovocných štiav boli publikované spoločnosťou AIJN (Association of the Industry of Juices and Nectars From Fruits and Vegetables) v Code of Practice [2].

Náš príspevok mal za cieľ porovnať kvalitu niektorých komerčných 100% pomarančových a jablčných štiav s odporúčanými hodnotami RSK pre autentické výrobky (Code of Practice [2]).

Kvalita pomarančových a jablčných štiav bola testovaná podľa profilu niektorých organických kyselín stanovených ITP metódou a podľa profilu cukrov stanovených s HPLC metódou. Dôraz bol kladený na stanovenie kyseliny izocitrónovej metódou ITP s použitím vhodného vodiaceho elektrolytu. Kyselina izocitrónová je jeden z významných markerov autenticity indikujúcich pravosť štiav.

Analyzované markery autenticity : kyselina izocitrónová, fruktóza, glukóza, sacharóza, sorbitol.

Materiál a metódy

Fruktóza, glukóza, sacharóza a sorbitol boli analyzované súčasne metódou HPLC za nasledovných podmienok:
Analytická kolóna 150x3 mm, plnená so sorbentom Separon SGX NH_2 5 µm, mobilná fáza bola zmes acetonitril:voda, 80:20 (v/v), pri prietokovej rýchlosti 1,2 ml/min.
Detekcia s diferenciálnym refraktometrom RIDK-102 s nastavenou citlivosťou 4x, vstrekovaný objem 20 µl pri okolitej teplote.
Pre stanovenie izocitrónovej a citrónovej kyseliny bol použitý elektroforetický analyzátor EA 100 (Villa Labeco, SR). Detekcia konduktometrickým detektorom a UV detektorom pri vlnovej dĺžke 254 nm. Objem vstrekovanej vzorky bol 30 µl. Osobitným cielom bolo vypracovanie ITP metódy pre stanovenie izocitrónovej kyseliny, ktorá je spoľahlivým autentifikačným markerom.

Podmienky stanovenia kyseliny izocitrónovej metódou ITP :
$Le_{1,2}$: 6 mM HISCl + 6 mM HIS + 2 mM $CaCl_2$ + 0,1 % m-HEC, pH = 6,
Te:10 mM citrónová kyselina.
Prúd v predseparačnej kolóne bol 250 µA a v analytickej kolóne 30 µA.

Pre porovnanie ITP metódy bola D-izocitrónová kyselina stanovená aj enzymatickou metódou, účinkom izocitrátdehydrogenázy (Test kit of Boehringer Mannheim, Germany).

Výsledky a diskusia

Výsledky stanovenia sacharidov a kyseliny izocitrónovej metódou HPLC a ITP v niektorých komerčných pomarančových a jablčných šťavách deklarovaných ako „100% ovocného podielu“ sú uvedené v Tab. 1 a 2. Získané výsledky sú v dobrom vzťahu s RSK referenčnými hodnotami pre tieto šťavy. Najmä pomery glukózy a fruktózy boli v dobrom súhlase. Obsah sorbitolu vo väčšine analyzovaných jablčných šťavách je vyšší ako refernčné hodnoty RSK.

Tab. 3 uvádza výsledky stanovenia kyseliny citrónovej (ITP) a izocitrónovej (enzymaticky) v niektorých pomarančových šťavách, pričom pomer týchto kyselín je podstatný pre identifikáciu, čo môže byť tiež v určitom rozmedzí využité pre orientačnú identifikáciu druhov ovocia a jeho pôvodu. Niektoré vzorky nevykazovali minimálne požadovanú hodnotu kyseliny izocitrónovej v porovnaní s hodnotami v Code of Practise [2]. Vyšší pomer kyseliny citrónovej k izocitrónovej poukazuje na to, že krajina pôvodu týchto komerčných pomarančových štiav môže byť Brazília, alebo ich kvalita sa viac približuje k upravenej šťave, do ktorej bola pridaná voda, cukor a kyselina citrónová, teda kvalitou sú bližšie k nektáru.

D-izocitrónová kyselina bola dodatočne stanovená ITP metódou. Pre toto stanovenie bola modifikovaná publikovaná metóda [3], v ktorej vodiaci elektrolyt obsahuje Ca^{2+} katión. K rozdeleniu polohových izomérov kyseliny citrónovej a izocitrónovej dochádza v dôsledku odlišnej schopnosti tvoriť Ca-cheláty a ich rôznej pohyblivosti v elektrickom poli..

Obrázok 1 zobrazuje izotachoforeogram stanovenia izocitrónovej kyseliny v komerčných pomarančových šťavách.

Tab. 1 . Výsledky stanovení niektorých cukrov a kyseliny izocitrónovej v komerčných pomarančových šťavách („100 %“)

Pomarančová šťava	Fruktóza g/l	Glukóza g/l	Gluk./Fruk.	Sacharóza g/l	Izocitrón. kys.* g/l
Aro	26,17	22,60	0,86	36,47	0,196
Aro	20,10	17,71	0,88	52,92	0,174
Hello	26,77	24,97	0,98	42,77	0,113
Rio	25,57	26,67	1,04	37,69	0,103
Trefa	22,67	19,12	0,84	30,99	0,130
Bingo	25,33	25,08	0,99	31,81	0,108
Dolly	14,40	14,68	1,02	54,09	0,087
Elbestern	51,99	47,31	0,91	2,86	0,059
Best	26,84	24,82	0,92	31,84	0,100
Senza	20,58	19,96	0,97	29,48	0,115
RSK referenčná hodnota	**20 – 50**	**20 – 50**	**0,85-1,00**	**10 – 50**	**0,065 – 0,2**

Neistota merania 5%, * stanovené ITP metódou

Tab. 2 Výsledky stanovenia niektorých sacharidov v komerčných jablčných šťavách („100 %“) metódou HPLC

Jablčná šťava	Fruktóza g/l	Glukóza g/l	Glu/Fru	Sacharóza g/l	Sorbitol g/l
Aro	44,43	13,95	0,31	27,88	5,17
Aro	29,02	10,94	0,38	57,70	9,35
Hello	47,04	14,31	0,30	26,32	10,08
Rio	59,00	20,33	0,34	14,44	12,37
Trefa	51,94	15,81	0,30	11,10	10,16
Bingo	65,11	18,21	0,28	4,88	11,93
Dolly	46,03	13,16	0,29	21,15	9,60
Elbestern	69,95	34,04	0,49	ND	21,22
RSK referenčná hodnota	**55 – 80**	**18 – 35**	**0,3-0,5**	**5 – 30**	**2 - 7**

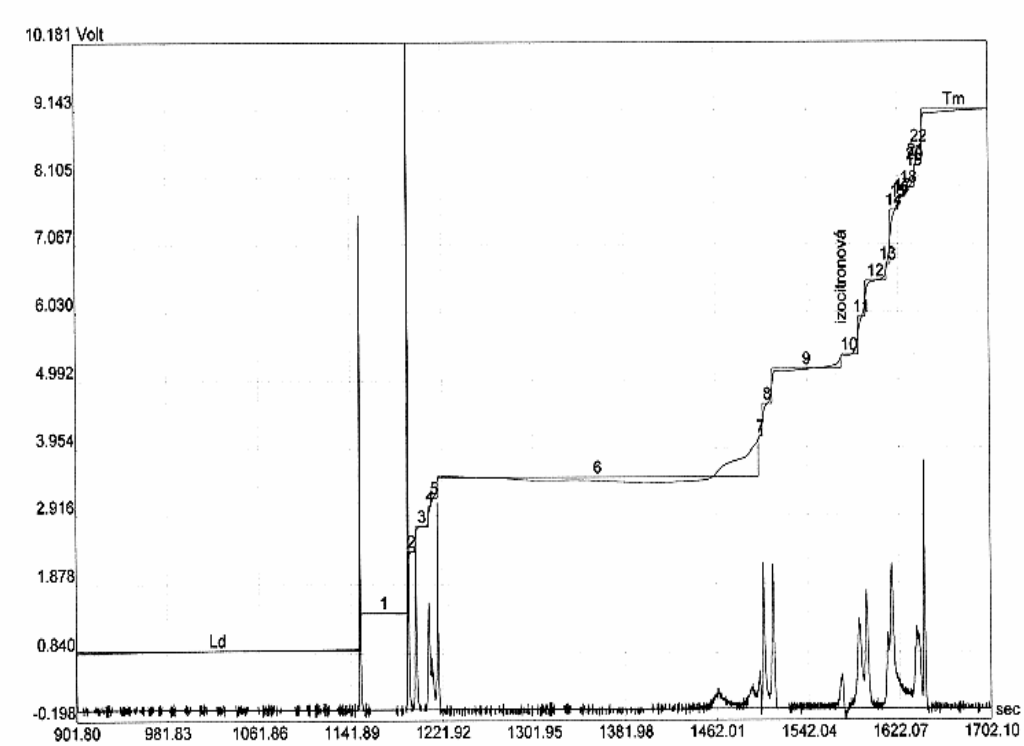
Neistota merania 5%,

Tab. 3 Výsledky stanovenia kyseliny citrónovej a izocitrónovej v pomarančových šťavách (n=3)

Pomarančová šťava	Kyselina citrónová (ITP metóda)		Kyselina D-izocitrónová (enzymatické stanovenie)*	Pomer citrón./isocitr. kyselina
	[g/l]	μ_A* [g/l]	[mg/l]	
RSK referenčné hodnoty	***6,3 - 17***		***65 - 200***	***max. 130***
Originálna čerstvá šťava	***9,8 - 11,9***	***0,06***	***89,3 - 140,2***	***84,9 - 109,7***
Fragopolis	9,2	0,06	43,2	212,9
Yo	10,7	0,06	49,3	216,5
O'Pfanner	9,3	0,06	53,8	172,8
Top Joy	8,4	0,05	55,4	151,6
Dago	7,3	0,04	57,8	126,3
Gold Glocken	10,4	0,06	55,4	187,7
Hello	7,2	0,04	81,8	88,0
Cappy	9,1	0,06	64,7	140,4
Hohes C	10,2	0,06	75,3	135,3
Fructal	12,4	0,08	80,0	155,4
Triumph	10,8	0,07	75,5	142,9
Rajo	10,8	0,07	76,1	141,9

* Kyselina D-izocitrónová bola stanovená enzymaticky, priemerná štandardná odchýlka 10%, μ_A - neistota merania typu A (štandardná odchýlka)

Obr. 1 Elektroforeogram stanovenia kyseliny izocitrónovej v pomarančovej šťave Glocken Gold (riedenie 10 x, $Le_{1,2}$: 6 mM HISCl + 6 mM HIS + 2 mM $CaCl_2$ +
+ 0,1 % m-HEC, pH 6, Te: 10 mM kyselina citrónová)



Literatúra
[1] Council Directive 93/77/EEC of 21September 1993 relating to fruit juices and similar products. Official Yournal of the European Communities No L 244.
[2] Code of Practice: 6.1. Referenz-Richtlinie für Orangensaft. Flüssiges Obst., 63, 9, 1996, s. 490 - 494.
[3] Zelenský, I.: Základný kurz izotachoforézy. Separácia aniónov. (Basic course of isotachophoresis. The anions separation). URVJT, Spišská Nová Ves, 1986, 17.

STANOVENÍ VAJEČNÉHO PODÍLU VE VAJEČNÝCH LIKÉRECH

Čížková H., Kurtová L., Krátká J., Voldřich M.
Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

Falšování potravinářských výrobků a polotovarů, tj. nedodržení deklarovaného složení, udávání nesprávného původu a staří, použití levnějších surovin apod., je významným problémem obchodu s potravinami. Falšování potravin postihuje všechny komodity potravinářských výrobků, zejména pak ty, které jsou vyráběny ve větších objemech a drahé produkty, kde snížení deklarované kvality může výrobci přinést významný zisk. K nejčastěji falšovaným potravinám patří rostlinné oleje, mléko a mléčné výrobky, ovocné nápoje, víno a lihoviny. K posuzování autenticity uvedených komodit bylo také v poslední době věnováno ve světě nejvíce pozornosti. V České republice je pozornost problematice falšování potravin věnována až v posledních deseti letech. Na vybraných pracovištích byly přejaty nebo vyvinuty a ověřeny metody důkazu autenticity některých výrobků (masné výrobky, přírodní vína, mléko a mléčné výrobky, maso a masné výrobky, citrusové nápoje atd.) a některé analytické metody průkazu falšování jsou již standardně využívány kontrolními orgány.

Vysoká přirozená variabilita jednotlivých potravinářských surovin, způsobená druhovými rozdíly, oblastí a podmínkami pěstování, stupněm zralosti a různými technologiemi skladování a zpracování, však vede k nutnosti využívat široké spektrum izolačních a analytických technik v závislosti na potravinářské komoditě, u které je falšování prokazováno. Obecná metodika postupu identifikace falšování je následující: na základě chemického složení posuzovaného výrobku jsou vytipovány a analyzovány jednotlivé chemické, fyzikální nebo biologické markery (cílové analyty), jejichž hodnoty (koncentrace, aktivity) jsou porovnány, v závislosti na použité metodě, s výsledky modelových experimentů nebo již existujících databází.

Falšování vaječných výrobků představuje klamavé označení bezvaječných výrobků za vaječné (těstoviny) nebo použití nižšího podílu vaječné hmoty než je minimální množství, které předepisují jednotlivé komoditní vyhlášky (Vyhlášky č. 326 a 333/1997 Sb. a 42/2000 Sb.) Zákona o potravinách č. 110/1997 Sb. (pečivo vaječné, těstoviny vaječné nebo domácí, majonézy, emulzní lihoviny). Vymahatelnost splnění požadavků vyhlášek je obtížná, protože podobně jako v jiných případech nejsou určena závazná kriteria ani metody, podle kterých by bylo možné posoudit skutečný podíl vajec ve výrobku.

Přestože se dají vybrat určitá obecná kriteria pro stanovení/odhad podílu vajec, vaječného žloutku nebo bílku ve výrobku, způsob jejich analýzy záleží z velké části na celkovém chemickém složení použitých surovin. Literární odkazy doporučují jako základní markery přítomnosti vajec ve výrobku: obsah cholesterolu (stanoven spektrofotometricky nebo plynovou chromatografií), stanovení celkového fosforu (spektrofotometricky), stanovení obsahu tuku a složení mastných kyselin (plynovou chromatografií).

Obecným problémem použití uvedených markerů pro stanovení přesné koncentrace vaječné hmoty ve výrobku je vysoká variabilita obsahu jednotlivých složek ve vejcích, jejich případná přítomnost v dalších surovinách (např. nutnost korekce obsahu celkového fosforu ve vaječných likérech v závislosti na obsahu mléčného podílu, nemožnost použití fosforu jako markeru u těstovin vzhledem k jeho poměrně vysoké koncentraci v mouce), chemické změny stanovených markerů (oxidace, tvorba komplexů fosfolipidů se škrobem a cukry, vytěkání) v závislosti na použité technologii výroby a metodě stanovení. Imunochemické a elektroforetické postupy kvantifikace podílu vajec zaměřené na stanovení

charakteristického profilu bílkovin pro důkaz bílku (ovoalbuminu, lysozymu, avidinu) a žloutku (lipovitelinů, fosfatidinu) a stanovení fosfolipidů žloutku, které jsou v literatuře poněkud opomíjeny, pravděpodobně díky jejich vyšší instrumentální náročnosti, by naopak mohly být nástrojem pro přesné stanovení obsahu vajec ve výrobku. Vzhledem k faktu, že výrobci někdy nahrazují z technologických a senzorických důvodů nižší podíl vajec přídavkem barviv, stabilizátorů, emulgátorů nebo použitím jiných surovin (mléko, rostlinné bílkoviny, rostlinné oleje), je možno falšování identifikovat i stanovením aditiv a charakteristických složek uvedených surovin

Materiál a metody

Modelové vzorky-složení:

Model č..	Obsah alkoholu	obsah žloutků	složení
1	20%	70g/l	mléko, cukr, líh, vaječné žloutky
2	20%	125g/l	mléko, cukr, líh, vaječné žloutky
3	20%	140g/l	mléko, cukr, líh, vaječné žloutky
4	20%	155g/l	mléko, cukr, líh, vaječné žloutky

Suroviny z tržní sítě: 4x žloutky,4x plnotučné mléko

Vzorky z tržní sítě:

11 x vaječný likér - Vaječný likér 2x (Hobé Pardubice), Vaječný likér emulzní 2x (KB Likér), Vaječný likér staročeský (LOR special drinks), Vaječný likér (Palírna u zeleného stromu), Vaječný likér (Dynybyl), Vaječný likér (Fruko Schulz), Vaječný likér 2x(Stock Plzeň)

3 x vaječný krém – Vaječný krém 3x (KB Likér),

2 x mléčný likér – Mléčný likér krémový (Likérka Dolany), Krémový likér (Likérka Dolany)

Markery a metody:

Fosfor Stanoven spektrofotometricky po mineralizaci vzorku a reakci s molybdenanem sodným při 823nm

Cholesterol GC/MS

Příprava vzorku: hydrolýza KOH 60 min, 60°C, násobná extrakce do hexanu, odpaření vzorku

Chromatografické podmínky:

Kolona: DB – 5, 30m x 0,32mm I.D., film: 0,25µm

Nosný plyn: helium, průtok 0,45ml/min

Nástřik: 1µl, split 1:1, T=300°C

Teplotní program: 230°C, 20°C/min na 260°C, 6°C/min °C na 290°C, 15min

Detektor: MSD, 300°C

Tuk Extrakce petroletherem podle Soxhleta

Mast. kyseliny GC/FID

Příprava vzorku: esterifikace v roztoku H_2SO_4 v methanolu pod refluxem 2 hod., extrakce do heptanu

Chromatografické podmínky:

Kolona: DB™ – WAX 60m x 0,25mm I.D., 0,25µm

Nosný plyn: dusík, průtok 1,7ml/min

Nástřik: 1µl 230°C, split 1:1

Teplotní program: 60°C po dobu 1 min, 10°C/min na 250°C, výdrž 10 min

Detektor: FID, 280°C

Odhad vaječného podílu: Statistickým zpracováním obsahu jednotlivých markerů byl na základě tabelovaných dat a experimentálně zjištěných hodnot (analýza surovin a modelových vzorků) odhadnut vaječný podíl ve výrobcích. Hlavními příčinami chyby odhadu mohou být:

- velká variabilita složení surovin
- různé receptury a technologie výroby (odlišné složení, oxidace, tvorba komplexů, vytěkání markerů během výroby)
- přítomnost zvolených markerů obsahu žloutků v mléce (např. nutná korekce obsahu celkovéhofosforu v závislosti na obsahu mléčného podílu – přepočteno na základě zastoupení vybraných mastných kyselin)
- chyby použitých izolačních a analytických metod

Výsledky a diskuse

Obsah zvolených markerů

Podle předpokladu, byly nejvíce variabilní složkou obsah cholesterolu ve žloutcích. Zastoupení ostatních sledovaných složek bylo poměrně stálé. Jistou nevýhodou zvolených markerů podílu žloutků je jejich přítomnost v mléce, zatímco obsah cholesterolu je řádově nižší, fosfor vnesený mlékem bylo nutno odečíst.

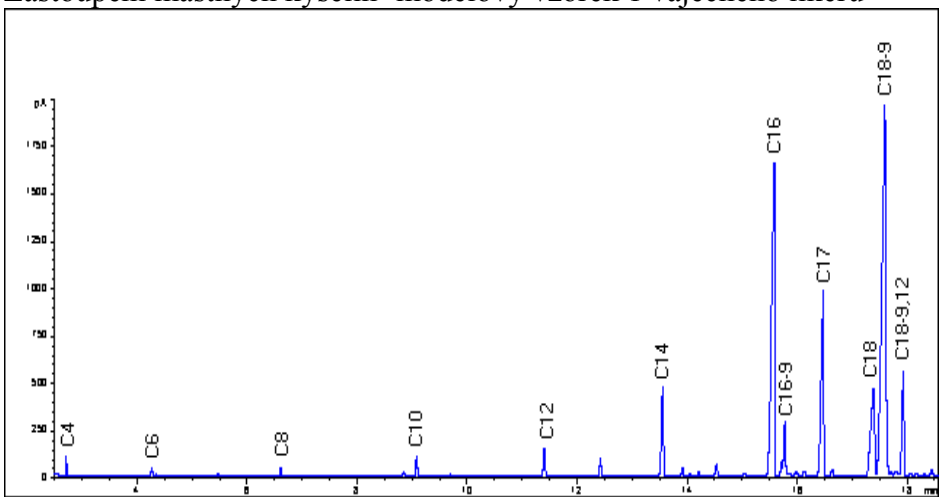
Obsah zvolených markerů stanovený v surovinách, modelových a reálných vzorcích

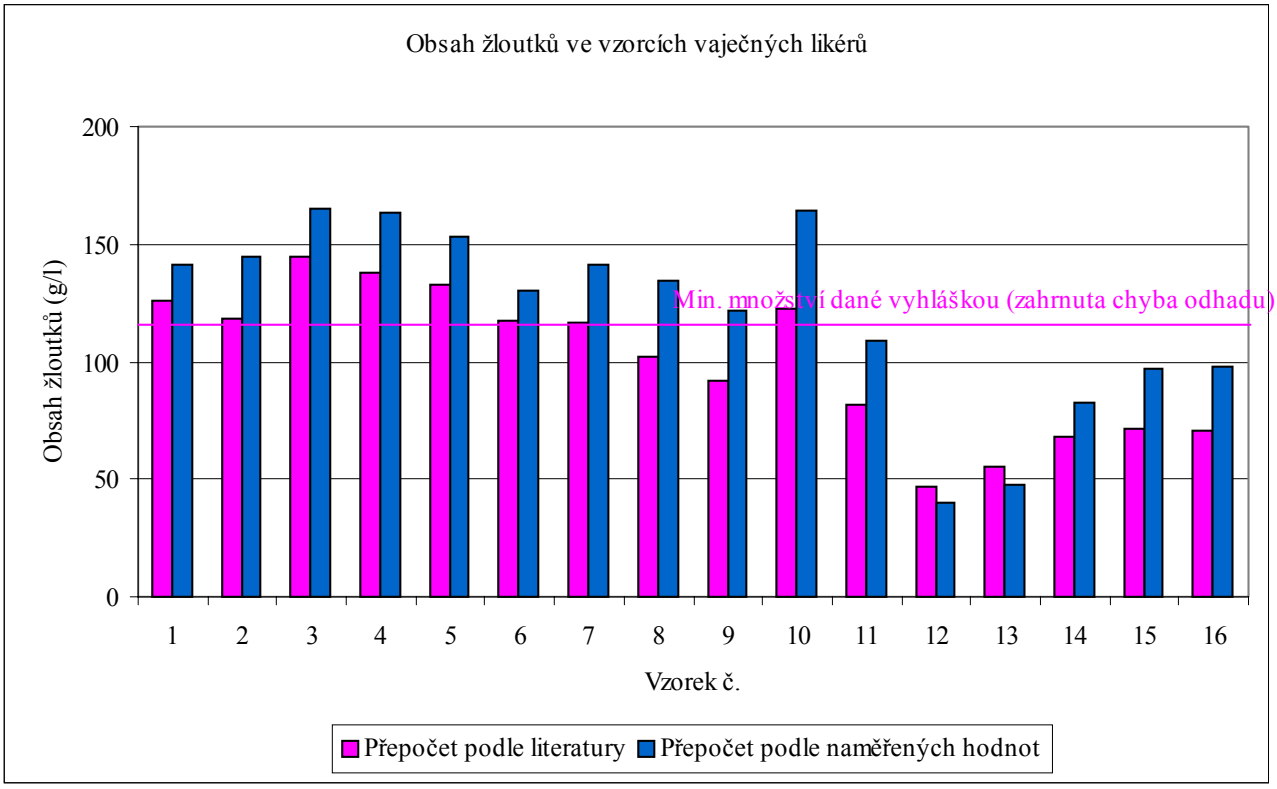
Výrobek	Označení	Fosfor [mg/kg]	Cholesterol [mg/kg]	Tuk [g/kg]	Mastné kyseliny [mg/kg]	Výrobek	Označení	Fosfor [mg/kg]	Cholesterol [mg/kg]	Tuk [g/kg]	Mastné kyseliny [mg/kg]
Žloutky	1	5400	1991	*	143	Vaječné likéry	3	1039	1569	46	37
	2	4734	8825	*	234		4	932	1671	52	40
	3	4232	7403	*	203		5	934	1501	39	28
	4	3974	5153	*	277		6	893	1143	34	28
Mléko	1	1031	112	*	24		7	759	1513	27	26
	2	826	77	*	25		8	836	693	31	27
	3	816	75	*	27		9	738	684	31	22
	4	870	83	*	26		10	444	637	24	21
Modelové vzorky	1	859	827	45	26		11	934	1043	44	27
	2	1088	1120	53	38	Mléčné likéry	12	777	639	21	18
	3	1185	1488	62	40		13	367	699	32	24
	4	13335	1493	68	42	Vaječné krémy	14	492	67	25	23
Vaječné likéry	1	940	1283	37	32		15	560	116	24	21
	2	754	1579	42	33		16	438	896	26	24

Korekce obsahu fosforu vneseného mlékem

Odhad podílu fosforu vneseného do vaječného likéru mlékem (za předpokladu použití celého mléka ne např. syrovátky) bylo možné na základě výsledků analýzy mastných kyselin. Pro korekci byly využity poměry obsahu nižších mastných kyselin (kaprylové, kyprinové, laurové a myristové) ku kyselině palmitové. Správnost zvoleného postupu byla ověřena na modelových vzorcích.

Zastoupení mastných kyselin -modelový vzorek 1 vaječného likéru





Hodnocení analyzovaných výrobků

Ze statistického zpracování jednotlivých faktorů ovlivňujících přesnost stanovení vaječného podílu byla chyba odhadu stanovena cca 20%, tj. vzorky s minimálním obsahem žloutků118 g/l byly posuzovány jako nefalšované.

Z analyzovaných 14 vzorků vaječných likérů a krémů nevyhovělo požadavkům vyhlášky 6 (přepočítáno podle tabelovaných hodnot) a 4 (přepočítáno podle průměrných hodnot markerů v analyzovaných surovinách)

Pro větší správnost odhadu vaječného obsahu bylo doporučeno rozšířit soubor posuzovaných markerů popř. instrumentálních metod (charakteristických proteinů lipovitelinů, fosfatidinu, identifikace fosfolipidů, těkavých látek, NIRS)

Použitá literatura:

1. Vojtaššáková, A., Kováčiková, E., Holčíková, K., Simonová, E.: Mléko a vejce, Potravinové tabulky, Bratislava 2000
2. National agricultural library, USA, www.nal.usda.gov
3. Míková, K.: Vejce, Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů, 1999, 12, 20, 28,
4. Pulliainen, T. K., Wallin, H. C.: Determination of total phosphorus in foods by kolorimetry: summary of NMLK collaborative study, Journal of AOAC international, 79, 6, 1996, 1408 – 1410
5. Cauderay, P.: Egg pasta – determination of cholesterol used to calculate the egg content, Trav. Chim. Aliment. Hyg., 69, 1978, 550 – 555

REFERENČNÍ STANDARD PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ SVÍRAVÉ CHUTI ČERNÉHO ČAJE

Drobná Z.
MZLU Brno, Ústav technologie potravin, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Úvod

Svíravá chuť je vjem, jenž je pro většinu hodnotitelů sice snadno rozeznatelný, avšak obtížně popsatelný nebo definovatelný. Tato chuť je všeobecně vnímána jako pocit extrémní suchosti v ústech nebo zvrásnění sliznice ústní dutiny. Primární příčinou svíravé chuti je interakce proteinů slin s některými polymerními fenolovými sloučeninami přítomnými v potravinách rostlinného původu. Tyto interakce vedou k denaturaci proteinů slin a tím ke ztrátě ochranného vlivu, v důsledku čehož dochází k interakci s proteiny ústní dutiny. Tudíž svíravou chuť lze spíše klasifikovat jako vjem taktilní než chuťový.

Jedním z důležitých senzorický ukazatelů kvality čaje je intenzita svíravé chuti čajového nálevu. V jeho chuťovém profilu je výrazně vnímána nejen chuť svíravá, ale i řada dalších dílčích chutí, zejména chuť hořká. Jelikož rozdíly v senzorickém vnímání hořkosti a svíravosti jsou velmi malé a pro nedostatečně školené hodnotitele obtížně rozpoznatelné, je nutné použít pro správné ohodnocení svíravé chuti čajového nálevu vhodný referenční standard.

Materiál a metoda

Na základě literární rešerže byly vybrány tři skupiny potenciálních referenčních standardů - síran hlinito-draselný, tannin a ovocné džusy. V souladu s normou ISO 8586 byly vybrány dvě koncentrace síranu hlinito-draselného (0,7 g/l a 1,5 g/l $AlK(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$) a tanninu (1,5 g/l a 3,0 g/l). Třetí skupina - džus z červených hroznů, černého rybízu a brusinkový džus - představovala svíravou chuť reálného systému. Na přípravu vzorků byla použita destilovaná voda. Vzorky byly hodnotitelům předkládány v náhodném pořadí a byly hodnoceny při pokojové teplotě.

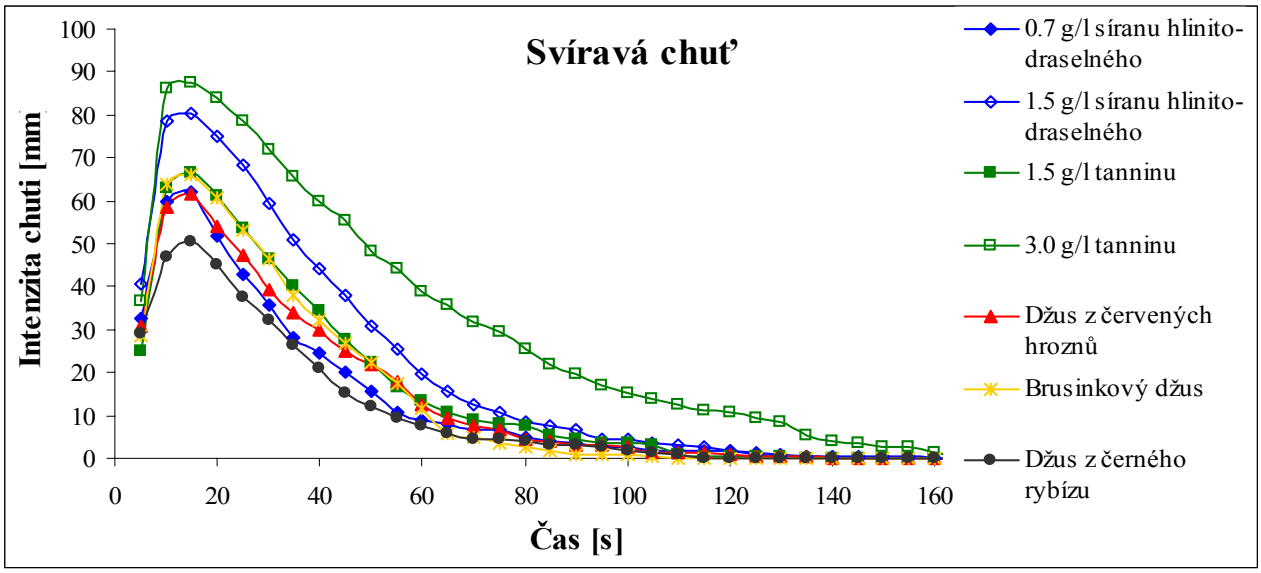
Intenzita svíravé chuti uvedených potenciálních standardů byla vztažena k intenzitě svíravé chuti čajového nálevu černého čaje (Orange Pekoe), připraveného následujícím způsobem - 4 čajové sáčky byly zality 1 litrem právě vroucí destilované vody a ponechány 5 minut vylouhovat.

Senzorického hodnocení se zúčastnilo 8 hodnotitelů ve věku od 19 - 35 let. Všichni hodnotitelé prošli nejméně půlročním školením odpovídajícím požadavkům normy ISO 8586 a citlivost jednotlivých hodnotitelů byla posuzována podle normy ISO 3972.

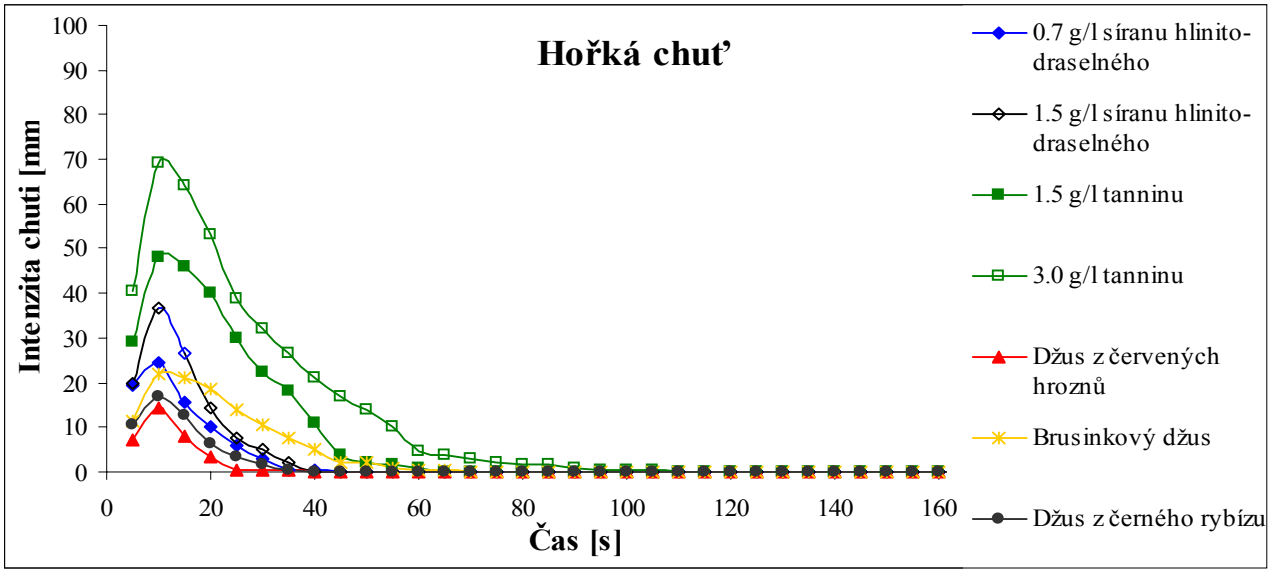
Časovou studií byla u všech potenciálních standardů hodnocena kromě svíravé chuti rovněž intenzita vedlejších chutí - kyselé a hořké. Vnímaná intenzita příslušné chuti byla hodnotiteli zaznamenána v 5-ti s intervalech na grafické nestrukturované stupnici (100 mm).

Výsledky

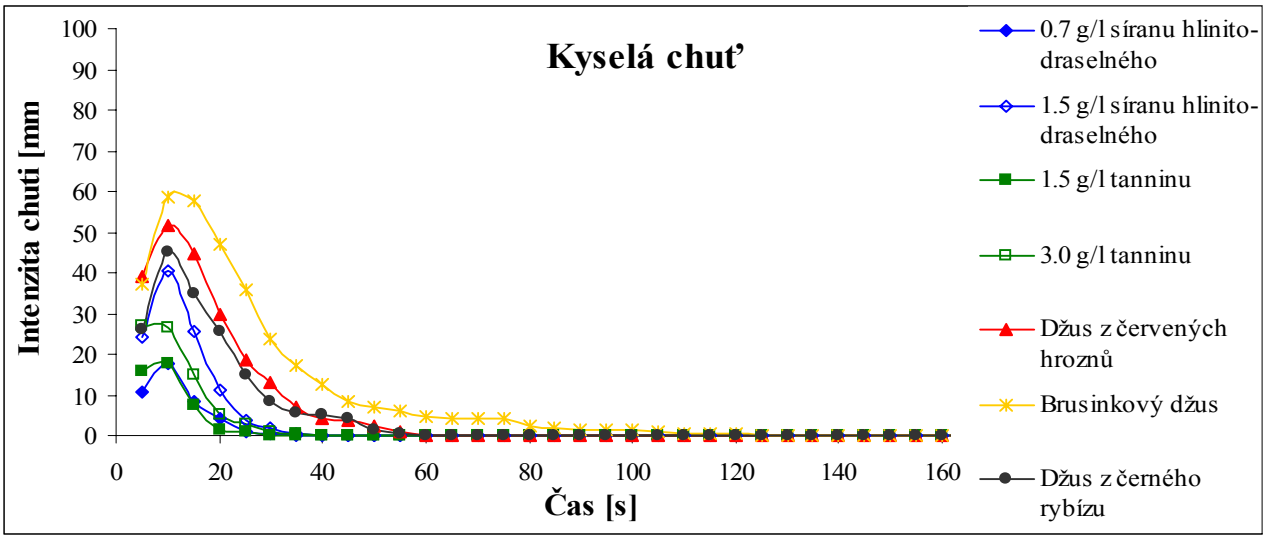
Ze závislosti intenzity chuti na čase byly u jednotlivých hodnotitelů získány časové křivky hodnocených vzorků. Výsledné časové křivky potenciálních referenčních standardů pro svíravou, hořkou a kyselou chuť jsou uvedeny v grafech č. 1, 2 a 3.



Graf č. 1: Výsledné časové křivky potenciálních referenčních standardů pro svíravou chuť



Graf č. 2: Výsledné časové křivky potenciálních referenčních standardů pro hořkou chuť



Graf č. 3: Výsledné časové křivky potenciálních referenčních standardů pro kyselou chuť

Pro zjištění statistických rozdílů mezi časovými křivkami jednotlivých potenciálních standardů pro danou hodnocenou chuť byla použita ANOVA. Výsledky pro svíravou, hořkou a kyselou chuť jsou uvedeny v tabulce č. 1. Pro každou chuť byly prokázány nejen statisticky významné rozdíly ($p < 0{,}001$) mezi hodnocenými standardy, ale i významné rozdíly ($p < 0{,}001$) v doznívání daného chuťového vjemu mezi potenciálními standardy.

Tabulka 1: ANOVA pro svíravou, hořkou a kyselou chuť

Proměnné	**df**	**Svíravá chuť**	**Hořká chuť**	**Kyselá chuť**
Standard (S)	6	***	***	***
Opakování (R)	1	ns	ns	ns
Čas (T)	31	***	***	***
S x T	186	***	***	***

*, **, ***: významnost na $p < 0.05$, 0.01, 0.001, v uvedeném pořadí
ns = není významný
df = stupeň volnosti

Pro každou hodnocenou chuť byl pomocí Student - Neuman - Keuls porovnávacího testu určen standard, jehož časový profil je výrazně odlišný od ostatních standardů. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2: Student-Newman-Keuls porovnávací test pro hodnocené chutě

Standardy	**N**	**Průměrné hodnoty pro chuť**		
		Svíravou	**Hořkou**	**Kyselou**
0.7 g/l síran hlinito-draselný	512	14.14 ^{b}	2.59 ^{c}	1.41 ^{d}
1.5 g/l síran hlinito-draselný	512	21.59 ^{b}	3.60 ^{c}	3.43 ^{c,d}
1.5 g/l tannin	512	16.88 ^{b}	8.06 ^{b}	1.43 ^{d}
3.0 g/l tannin	512	32.77 ^{a}	12.96 ^{a}	2.39 ^{d}
Džus z červených hroznů	512	15.43 ^{b}	1.17 ^{c}	6.88 ^{b}
Brusinkový džus	512	15.64 ^{b}	3.77 ^{c}	11.28 ^{a}
Džus z černého rybízu	512	11.64 ^{b}	1.73 ^{c}	5.53 ^{b,c}

* Hodnoty se stejným písmenkem v jednom sloupci nejsou statisticky rozdílné na $p < 0.05$.

Z výsledků Student - Neuman - Keuls porovnávacího testu lze konstatovat následující:

- časový profil svíravé chuti 0,3 g/l tanninu byl statisticky průkazně odlišný od ostatních,
- pro hořkou chuť, obě koncentrace tanninu se statisticky významně lišily od ostatních hodnocených standardů a navíc časové profily 1,5 g/l tanninu se statisticky průkazně lišil od profilu 3,0 g/l tanninu,
- časový profil kyselé chuti brusinkového džusu byl významně odlišný nejen od ostatních hodnocených džusů, ale i od obou koncentrací síranu hlinito-draselného a tanninu. Kyselá chuť 1,5 g/l síranu hlinito-draselného se však výrazně nelišila od kyselé chuti džusu z černého rybízu.

Závěr

Pro přesné hodnocení svíravé chuti čajového nálevu černého čaje je nutné nalézt takový referenční standard, jehož intenzity vedlejších chutí, zejména hořké a kyselé, jsou pokud možno neznatelné. Použití tanninu jako referenčního standardu se ukázalo nevhodné. U obou hodnocených koncentrací byla výrazně vnímána hořká chuť, která by mohla vést k chybným výsledkům. V případě všech hodnocených džusů byla vedle požadované intenzity svíravé chuti výrazná kyselá chuť. Jako nejlepší referenční standard lze doporučit 0,7 g/l síranu hlinito-draselného, jehož intenzita hořké a kyselé chuti je ve vztahu k požadované intenzitě svíravé chuti zanedbatelná.

S podporou výzkumného záměru č. MSM 432100001.

SENZORICKÉ HODNOCENÍ PLÍSŇOVÝCH SÝRŮ

Vítová E.[1], Drdák M.[1], Březina P.[2]
1-Ústav potravinářské chemie a biotechnologie, FCH VUT Brno, Purkyňova 118, 612 00 Brno
2-Katedra ekonomiky a hygieny výživy, VVŠ PV Vyškov, 682 03 Vyškov 3

Úvod

Senzorická jakost poživatin má čtyři znaky: vzhled, vůni, chuť a konzistenci (texturu). Tyto znaky, které vnímáme smyslovými orgány, jsou mimořádně důležité pro konzumenta při hodnocení jakosti. Prvořadé postavení přitom mají vůně a chuť. Spotřebitel upřednostňuje anebo odmítá potraviny na základě pozitivních anebo negativních pocitů, které se vyvinuly v důsledku jeho zvyklostí nebo zážitků. Člověk je schopen díky citlivosti a mnohostrannosti svých smyslových orgánů registrovat víceré vlastnosti a ve vzrůstající míře je schopen rozlišit, že různé chuťové a aromatické látky mají fyziologický význam, protože mají vliv na krevní oběh, trávení a resorpci.

Senzorické hodnocení potravin

Senzorické posuzování potravin je způsob hodnocení, při němž je využito lidských smyslů za takových podmínek, aby se dosáhlo objektivních a spolehlivých výsledků.
Hodnotitel získává informace o senzorických vlastnostech potravin na základě smyslových vjemů, tyto vjemy pak můžeme ve výsledku smyslového vnímání přičlenit k jednotlivým znakům jakosti: vzhledu, vůni, chuti (chutnosti) a konzistenci.
Vjem v sobě zahrnuje:

- reprodukované minulé zkušenosti
- myšlení
- city a emoce

Senzorické zkoumání potravin je komplexní proces, v rámci kterého analytik v jednom procesu analyzuje a současně vyhodnocuje. Tím se odlišuje tato část potravinářské analytiky do přístrojových metod, při kterých se analýza i vyhodnocení mohou udělat časově a místně nezávislé na sobě.
Vzhledem k tomu, že ani v budoucnosti nebude možné nahradit výsledky senzorického zkoumání celkové jakosti potravin chemickými anebo fyzikálně-technickými měřícími metodami, v současné době převládá úsilí o objektivizaci senzorických fyziologických zkoušek. Toto úsilí se zaměřuje na využití standardizovaných metod a podmínek při zkoumání a posuzování vlastností potravin osobami, které byly odborně vyškolené a přezkoušené z hlediska jejich schopností posuzovat jednotlivé výrobky. Takto můžeme dosáhnout správné a reprodukovatelné výsledky analýz. Při senzorickém zkoumání potravin se využívají poznatky potravinářské chemie, fyziologie smyslů, psychologie a matematické statistiky.
Senzorická analytika se objektivizuje čtyřmi způsoby:

- Vnímatelnost hodnotitelů musí být známá a musí se trvale udržovat cvičením.
- Musí se uplatňovat metody, při kterých je potřebný posudek více hodnotitelů. Předpokladem bezchybného plánování a vykonání práce je matematicko-statistické vyhodnocení senzoricky zjištěných analytických údajů.
- Dodržování podmínek, které vyloučí všechny rušivé vlivy.
- Senzorické vlastnosti potravin podmiňuje jejich látkové složení. Tím, že objevíme vztahy mezi jejich chemickými, fyzikálními a mikrobiologickými hodnotami je možné objektivizovat senzorické hodnocení jakosti potravin.

Profilová metoda

Cílem profilové metody je ukázat chutnost analyzovaných výrobků v celém komplexu se všemi složkami, které můžeme vnímat při chutnání v ústech.

Princip profilové metody je popis všech postupně vnímaných čichových a chuťových komponent, případně i komponent konzistence. Zároveň se určí intenzita každého vjemu podle pevně určené a hodnotiteli osvojené stupnice. Takto definovaná metoda umožňuje podrobný a důkladný popis vůně, chuti i konzistence.

Senzorická profilová metoda je náročná a vyžaduje rozsáhlé přípravy. Jde především o metodickou výchovu hodnotitelů, exaktní přípravu vzorků a jejich podávání i o velké časové nároky na samotnou zkoušku.

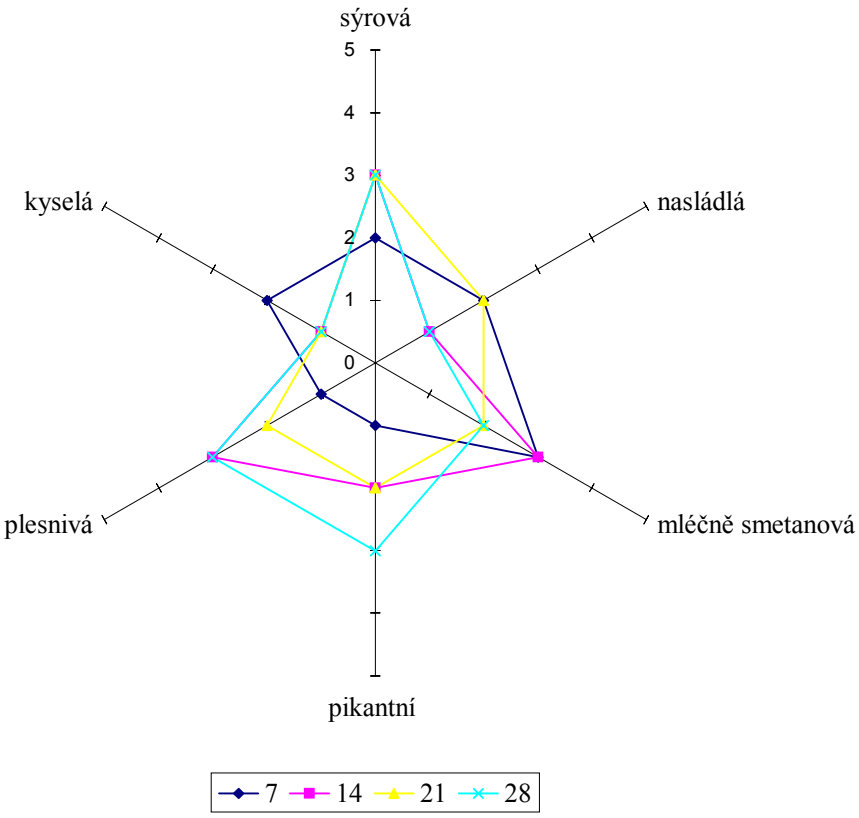
Experimentální část

K této práci byly použity vzorky sýrů Niva (obsah tuku 50 %) vyrobených v mlékárně MADETA a. s. České Budějovice, závod Český Krumlov.

Vzorky byly odebrány ve čtyřech fázích zrání (stáří 7, 14, 21 a 28 dnů). Sýry byly hodnoceny pomocí profilové metody. Hodnotitelé, studenti 5. ročníku Ústavu potravinářské chemie a biotechnologie FCH VUT v Brně, do předem vypracovaného formuláře vyznačili intenzitu vybraných chutí a vůní s použitím pětibodové číselné stupnice (1 – neznatelná intenzita → 5 – velmi silná intenzita). Získané výsledky byly zpracovány formou profilových hvězdicových diagramů.

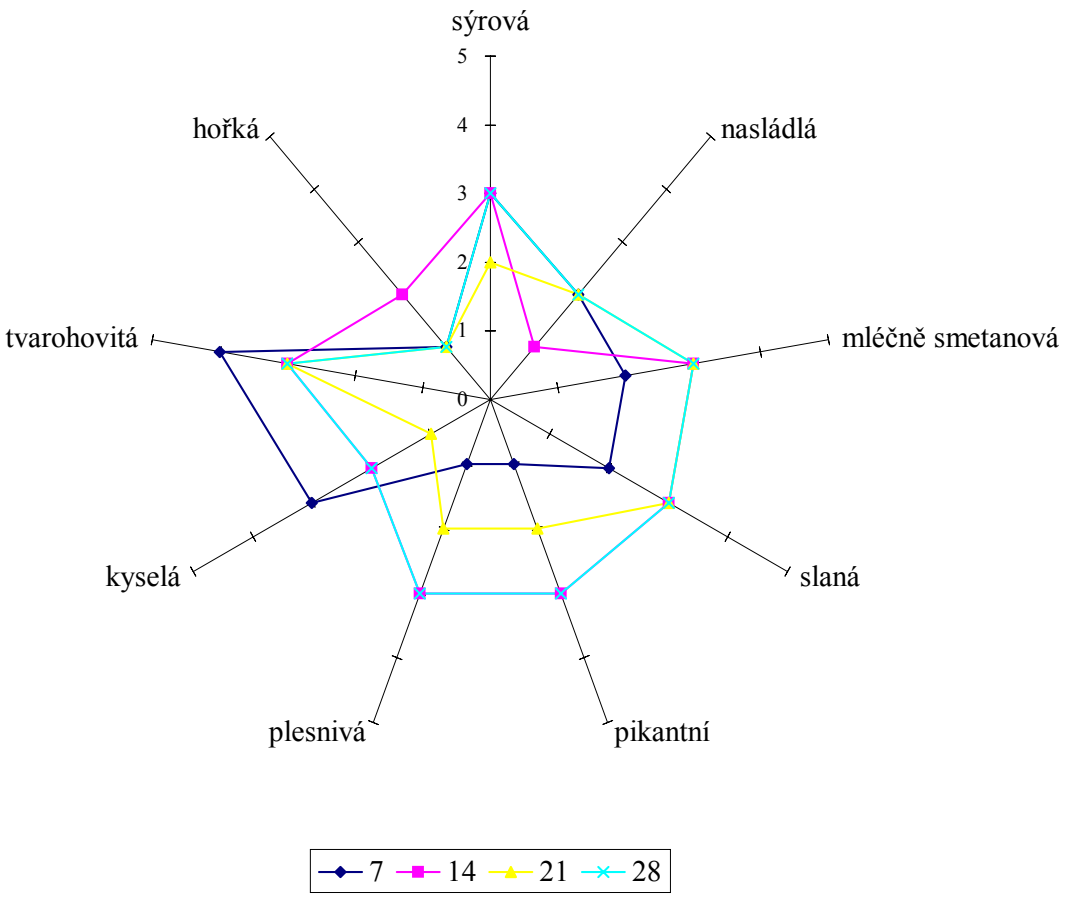
Výsledky a diskuse

Pro hodnocení vůně bylo vybráno šest charakteristických deskriptorů (viz obr. 1). Z grafu je patrný postupný nárůst intenzity vůně sýrové, pikantní, mléčně smetanové a plesnivé během zrání, zatímco kyselá a nasládlá se příliš nemění. Růst intenzity vůní charakteristických pro plísňové sýry je způsoben postupující proteolýzou a lipolýzou a tvorbou těkavých aromatických látek, jež se výrazně podílejí na aroma sýrů.



Obr. 1 Srovnání senzorického profilu vůně různě starých sýrů

Pro hodnocení chuti bylo vybráno 9 charakteristických deskriptorů (obr. 2). Z grafu vyplývá, že kyselá a tvarohovitá chuť se postupem zrání snižuje. Zato sýrová, slaná, plesnivá a pikantní chuť postupně nabývá na intenzitě. Hořká se v průběhu zrání nemění a zůstává na nejnižší intenzitě, mléčně smetanová v průběhu kolísá mezi středními hodnotami. Tyto výsledky odpovídají předpokládanému průběhu zrání plísňových sýrů. Nízká intenzita hořké chuti svědčí o správném průběhu proteolýzy, typické chuťové vlastnosti sýra jako plesnivá, pikantní se zvýrazňují s nárůstem plísňového porostu.



Obr 2. Srovnání senzorického profilu chuti různě starých sýrů

Závěr

Charakteristická chuť a vůně sýrů je tvořena celou řadou těkavých sloučenin, které se postupně uvolňují během konzumace. Pro jejich správný vývoj je při výrobě sýra nezbytný proces zrání, při němž dochází k rozkladu základních složek sýra, tj. laktosy, bílkovin a tuku, a následně ke vzniku nových sloučenin vzájemnými reakcemi výchozích látek nebo meziproduktů. Zvláště u plísňových sýrů dochází vlivem výrazné lipolytické činnosti ušlechtilé plísně Penicillium roqueforti k tvorbě širokého spektra aromatických látek, jež tvoří typickou výraznou chuť tohoto druhu sýra. Sýry se vyznačují typickým zelenomodrým žilkováním plísně na řezu (angl. blue veined cheese) a pikantní chutí zvýrazněnou vyšším obsahem soli.

Literatura

POKORNÝ, J. *Metody senzorické analýzy potravin a stanovení senzorické jakosti*. ÚZPI Praha 1997. ISBN 80-85120-60-7

SENZORICKÉ HODNOCENÍ TAVENÝCH SÝRŮ V ZÁVISLOSTI NA DOBĚ CHLAZENÍ

Jarošová A., Štěpková M.
Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

SUMMARY

Sensory assessments of particular cheese groups were made with view to the various cooling times, ways of cooling and cooling temperature ranges. Besides, a sample of UHT cheese was evaluated, aged 4 months, stored at 4 – 8 ^{o}C. The following descriptors were included into the scope of assessment: packing appearance, handling properties of the packing (easiness of unpacking, adhesiveness to the packing), colour, consistency (spreadability, occurrence of bubbles, homogeneity of the melt), odour, tackiness in the mouth and taste. In evaluating the level of characteristics both graphical and ordinal scales were used.

The most easy-to-unpack was the sample of UHT cheese which quality factor was directly associated with the lowest adhesiveness to the packing foil. On the other hand, the best spreadable was the sample from the test group A (once packed the sample was cooled down free laid in the freezer at 0 ^{o}C, in the next step it was kept at 11 ^{o}C). Similar results were obtained with respect to the assessment of tackiness in the mouth. The lowest scoring in terms of taste quality was given to the sample of UHT cheese. There were not found any substantial variations among the individual test groups as to the packing appearance, colour, aroma and homogeneity of the melt.

Key words : sensory evaluation, cheese,

ÚVOD

Kvalitativním ukazatelem tavených sýrů je jejich konzistence. Míra tuhosti je dána jednak složením, to je obsahem tuku a sušiny a jednak technologii výroby, použitím suroviny, tavících solí i způsobů tavení. Výslednou konzistenci tavených sýrů ovlivňuje i rychlost chlazení po tavení, která by měla být co nejrychlejší. Čím pomaleji se tavené sýry chladí, tím je jejich konzistence tužší.

Senzoricky byly hodnoceny tavené sýry v závislosti na různé době chlazení, způsobu chlazení a při různé teplotě. Byl hodnocen i vzorek UHT sýra, stáří 4 měsíce, skladovaný při 4 – 8 ^{o}C. Sledovaly se následující deskriptory : vzhled obalu, manipulace s obalem (snadnost rozbalení, lepivost na obal), barva, konzistence (roztíratelnost, výskyt bublinek, homogenita taveniny), vůně, lepivost v ústech a chuť. K hodnocení byly požity grafické i bodové stupnice.

MATERIÁL A METODY

Materiál

Vzorky roztíratelných tavených sýrů bez přísad byly odebírány v tavírně Hodonín (TPK, s.r.o.). U tavených sýrů byly po výrobě použity čtyři způsoby chlazení:

- *vzorky A* - po zabalení vychlazeny volně v mrazničce při 0 °C a pak drženy při teplotě 11 °C,
- *vzorky B* - okamžitě ochlazeny na teplotu 11 °C,
- *vzorky C* - uchovány při teplotě 23 °C po dobu 6 hodin a pak ochlazeny na 11°C,
- *vzorky D* - uchovány při teplotě 23 °C po dobu 11 hodin a pak ochlazeny na 1,9 °C,
- *vzorky E* – chlazeny klasicky, čtyři měsíce staré, skladované při teplotě 4 – 8 °C. Tyto vzorky sýrů byly vyráběny UHT záhřevem.

Metody

Senzorická analýza

Senzorické hodnocení tavených sýrů se provádělo v senzorické laboratoři Ústavu technologie potravin MZLU v Brně, kde zkušební místnost i přípravní prostor odpovídají požadavkům mezinárodní normy ISO 8589.

Hodnocení se provádělo pomocí předem vypracované metodiky. Jako nejdůležitější kritéria pro hodnocení byly vybrány tyto deskriptory : vzhled obalu, manipulace s obalem (snadnost rozbalení, lepivost na obal), barva, konzistence (roztíratelnost, výskyt bublinek, homogenita taveniny), vůně, lepivost v ústech a chuť.

Hodnotiteli byli studenti 5. ročníku oboru Technologie potravin, kteří byli rozděleni do 3 skupin. Tito studenti absolvovali základy senzorické analýzy na úrovni školených hodnotitelů a prakticky aplikovali metody používané v senzorické analýze na vybraných druzích potravin.

Pro hodnocení jednotlivých deskriptorů byly použity tříbodové stupnice, pro hodnocení vůně a chuti - grafické nestrukturované stupnice v délce 100 mm.

VÝSLEDKY

Výsledky senzorického hodnocení všech hodnocených vzorků byly zpracovány do pavučinových a sloupcových diagramů.

U vzhledu obalu nebyly zaznamenány příliš velké rozdíly u jednotlivých pokusů. Nejlépe byl senzoricky hodnocen vzorek z pokusu D, nejhůře vzorek z pokusu E.

U deskriptoru „snadnost rozbalení“ (graf 1) byly zaznamenány výrazné odlišnosti. Nejlépe rozbalitelný se jevil vzorek UHT sýra, s čímž přímo souvisela i nejmenší lepivost na obal. Snadnost rozbalení byla u vzorku z pokusu B obtížná.

Stejně jako u předchozího, byly i u deskriptoru „lepivost na obal“ (graf 2) zjištěny u všech pokusů výrazné rozdíly. Vzorek z pokusu E (UHT sýr) dosáhl nejlepších výsledků, na obal se nelepil, zbývající vzorky zanechávaly na obalu mírný film.

Při posuzování barvy (graf 3) bylo bodové hodnocení u všech pokusů velmi vyrovnané. Barva sýrů byla příjemně nažloutlá, smetanová. Nepatrné změny byly pozorovány u vzorku z pokusu E, jeho barva byla hodnocena jako bledá až šedá.

Nejlépe roztíratelný (graf 4) byl vzorek z pokusu A, jako průměrně roztíratelný byl vzorek z pokusu E.

Při hodnocení deskriptoru „výskyt bublinek“ 90 % hodnotitelů označilo vzorek z pokusu D bez bublinek, velký výskyt bublinek byl zaznamenán jedině u vzorku z pokusu C.

Bodové hodnocení homogenity taveniny (graf 5) bylo stejně jako u barvy vyvážené. První čtyři vzorky byly podle většiny hodnotitelů plně homogenní, pouze u vzorku z pokusu E byla tavenina označena i jako nehomogenní.

U lepivosti v ústech (graf 6) jsou viditelné výrazné rozdíly. Vzorek z pokusu A se jevil jako nelepivý, vzorky z pokusů B, C a D jako mírně lepivé, jako velmi lepivý byl označen vzorek z pokusu E.

Senzorické hodnocení vůně (graf 7) bylo u všech 5 vzorků velmi vyrovnané, jak je patrné ze statistického zpracování hodnot. Vůně sýrů byla typická, příjemná, bez cizího pachu.

Jako poslední byla hodnocena chuť (graf 8). Ze všech pokusů dosáhl nejmenšího bodového hodnocení vzorek z pokusu E. Chuť tohoto vzorku byla velmi nečistá, byla zde zaznamenána i cizí příchuť.

Dále byl porovnán *senzorický profil* všech 5 vzorků (A, B, C, D, E) .

<u>Vzorek z pokusu A</u> byl ohodnocen jako nejlépe roztíratelný, výborná byla i homogenita taveniny. Malé bodové hodnocení získal u deskriptorů snadnost rozbalení a lepivost na obal.

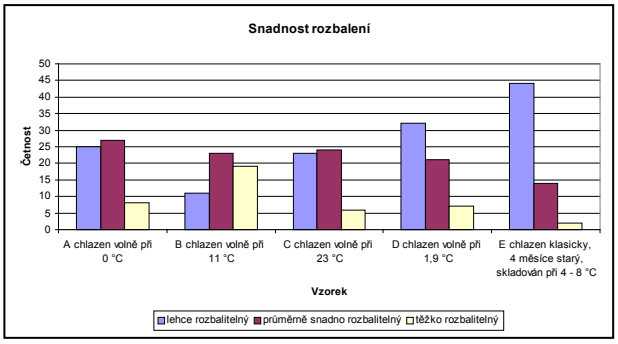
Vzorek z pokusu B měl ze všech deskriptorů nejlepší roztíratelnost. Nejmenší bodové hodnocení bylo zjištěno u deskriptorů lepivost na obal a lepivost v ústech.
I u vzorku z pokusu C byl zaznamenán jako nejlepší deskriptor roztíratelnost, naopak jako nejhorší deskriptor lepivost na obal, za ním následuje snadnost rozbalení.
U vzorku z pokusu D byla vynikající homogenita taveniny, malého bodového hodnocení dosáhl při hodnocení lepivosti v ústech a lepivosti na obal.
Vzorek z pokusu E se jevil jako na obal nelepivý, protože byl velmi lehce rozbalitelný. Jedná se o vzorek se špatnou roztíratelností, v ústech lepivý.
Z výše uvedeného můžeme konstatovat, že byly prokázány rozdíly u některých sledovaných vlastností mezi jednotlivými skupinami sýrů v závislosti na různém způsobu chlazení. Nejlépe rozbalitelný se jevil vzorek UHT sýra (vzorek E), s čímž přímo souvisela i nejmenší lepivost na obal. Na druhé straně lepivost v ústech byla u tohoto vzorku velmi výrazná, nejméně lepivý v ústech byl vzorek z pokusu A. Jako nejlépe roztíratelný byl označen vzorek z pokusu A. Nejmenší výskyt bublinek byl zaznamenán u vzorku z pokusu D. Co se týče posuzování chuti, nejlepší chutnost měly vzorky z pokusů A a B, nejméně chutnal vzorek z pokusu E. Nebyly zaznamenány výrazné rozdíly ve vzhledu obalu, v barvě, vůni a homogenitě taveniny u jednotlivých pokusů.

ZÁVĚR

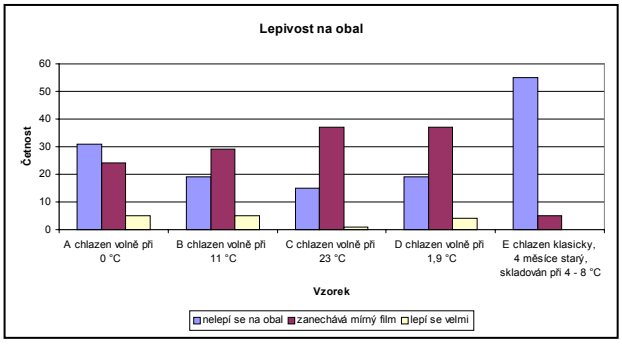
Byly prokázány rozdíly u některých sledovaných vlastností mezi jednotlivými skupinami sýrů. Zejména se to týká lepivosti na obal, snadnosti rozbalení, roztíratelnosti, lepivosti v ústech a chuti.
Pokus prokázal, že různá teplota chlazení velmi výrazným způsobem ovlivnila především konzistenci a chuť. Nejlépe roztíratelný byl vzorek z pokusu A (vychlazen volně při 0 °C). Na druhé straně nejlépe rozbalitelný se jevil vzorek UHT sýra, s tím souvisela i nejmenší lepivost na obal. Nejvíce chutnaly vzorky z pokusů A a B (vychlazen volně při 11 °C), nejmenší chutnost byla zaznamenána u vzorku UHT sýra.
Lze tedy konstatovat, že čím jsou tavené sýry po zabalení chlazeny rychleji a při nižší teplotě, tím jsou jejich texturní a chuťové vlastnosti lepší. Toto zjištění může být velmi důležitým poznatkem pro správné vedení technologického procesu.
Řešeno v rámci výzkumného záměru MSM č. 432100001

LITERATURA

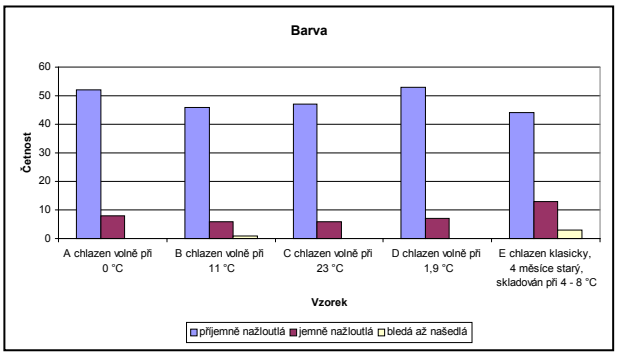
FOX, P. F.(Ed.) et al. : Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 2, Chapman & Hall, London, 1993, s. 601.
HRABĚ, J. – BUŇKA, F. – KŘÍŽ, O. – SEIDL, P. – BŘEZINA, P. : Srovnání senzorických znaků u tavených sýrů. In: Celostátní přehlídky sýrů 2001. VVŠ PV Vyškov, Želetavská sýrárna, a. s. Želetava, s. 64 – 68.
ISSANCHOU, S. - SCHLICH, P. - LESSCHAEVE, I. : Sensory analysis: methodological aspects relevant to thestudy of cheese. Lait, 1997, č. 77, s. 5 - 12.
LAVANCHY, P. – BÉRODIER, F. – ZANNONI, M. – NOEL, Y. – ADAMO, C. – SQUELLA, J. – HERRERO, L. : A guide to the senzory evaluation of texture of hard and semi-hard cheeses. INRA 1994, s. 40.
POKORNÝ, J. : Metody senzorické analýzy potravin a stanovení senzorické jakosti. ÚZPI Praha, 1997, s. 196, ISBN 80-85120-60-7.
STÉVENOT, C. – BÉRODIER, F. – SCHLICH, P. : Typologie aromatique des fromages de Comté. Science des aliments 17/1997, s. 548.
VALENTOVÁ, H. – PANOVSKÁ, Z. – DROBNÁ, Z. : Senzorické hodnocení tavených sýrů. In: Celostátní přehlídky sýrů 2000. VŠCHT Praha, s. 42



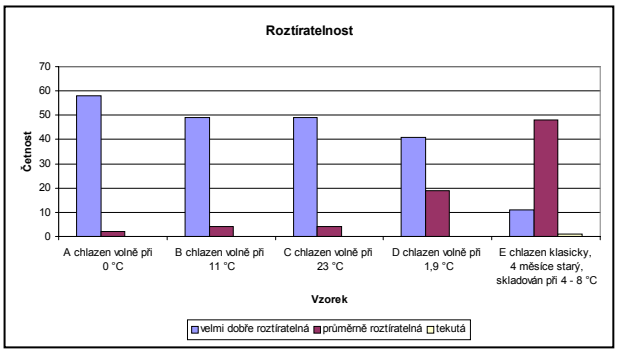
Graf 1 : Senzorické hodnocení deskriptoru : snadnost rozbalení



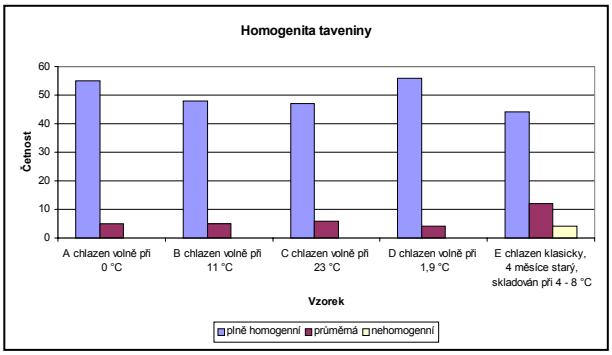
Graf 2 : Senzorické hodnocení deskriptoru : lepivost na obal



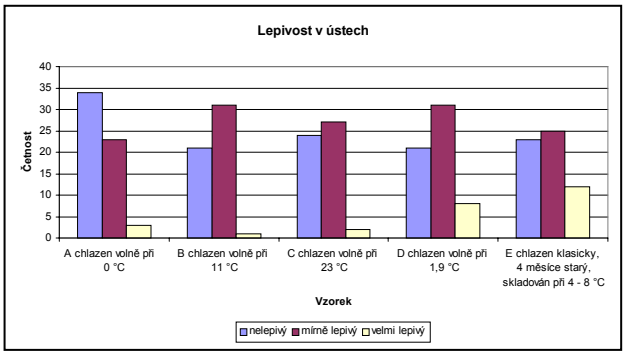
Graf 3: Senzorické hodnocení deskriptoru : barva



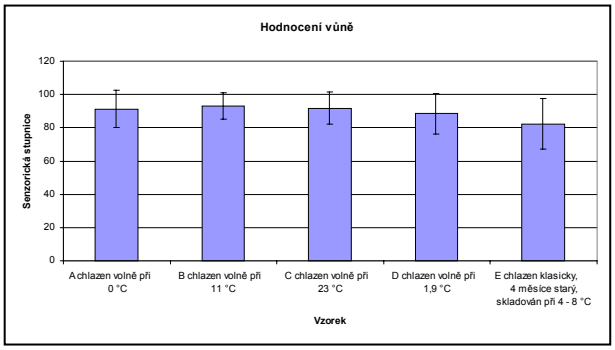
Graf 4 : Senzorické hodnocení deskriptoru : roztíratelnost



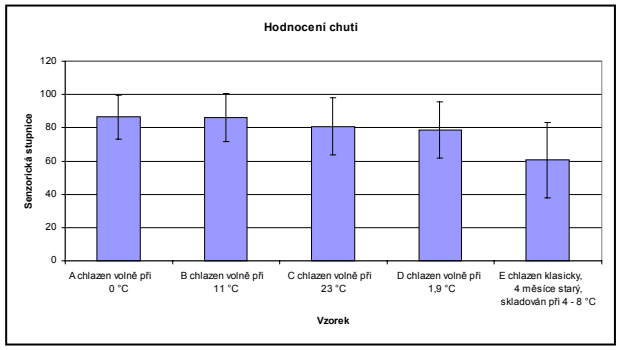
Graf 5 : Senzorické hodnocení deskriptoru : homogenita taveniny



Graf 6 : Senzorické hodnocení deskriptoru : lepivost v ústech



Graf 7 : Senzorické hodnocení deskriptoru : vůně



Graf 8 : Senzorické hodnocení deskriptoru : chuť

NOVÉ INFORMAČNÍ TECHNOLOGIE PRO POTRAVINÁŘSKÉ OBRAZOVÉ DATABÁZE

Grus J., Dobrý J., Pudil F.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha Technická 5, 166 28

ÚVOD

Metoda obrazové analýzy poskytuje značné množství dat, která lze rozdělit na dva typy.

Prvním z nich jsou především digitalizované vzorky nasnímané videokamerou, případně digitálním fotoaparátem nebo scannerem sejmuté fotografické předlohy pořízené běžným fotoaparátem.

Druhým typem je numerický výstup z obrazového analyzátoru po provedení samotné analýzy obrazu. Jednou ze součástí obrazové analýzy je proto archivace takto pořízených dat, ke kterým bude možno systematicky přistupovat, ať už z důvodu jejich dalšího statistického zpracování nebo jejich prezentace.

Předkládaná práce se zabývá systematizací získaných dat a možnostmi jejich prezentace pro veřejnost pomocí sítě Internet.

POUŽITÉ TECHNOLOGIE

Pro systematizaci a archivaci dat byl použit program Microsoft ACCESS XP nainstalovaný na počítači s operačním systémem Microsoft Windows XP. Pro prezentaci dat byl nainstalován Microsoft.NET Framework a Microsoft Internet Information Services ve verzi 5.1, který je součástí instalace MS Windows XP.

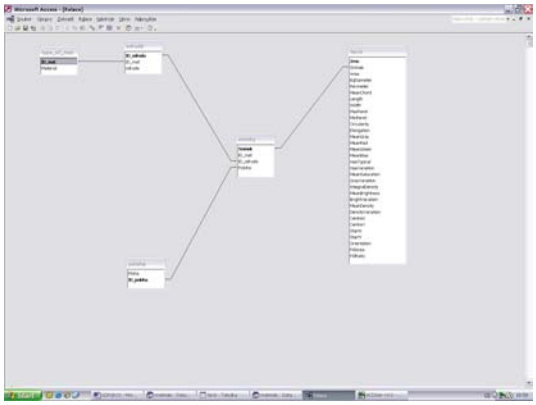
MATERIÁL, VZORKY A METODIKA

Do připravené databáze byly použity výsledky z obrazové analýzy zabývající se strukturní analýzou povrchu ječných zrn. Výstupem z obrazové analýzy je značné množství numerických dat. Z jednotlivých obrázků bylo stanoveno 30 parametrů pro každé zrno. Na jednom snímku se vyskytovalo průměrně 200 zrn, od každé odrůdy bylo nasnímáno 10 obrázků z hřbetní strany zrna a 10 obrázků z břišní strany zrna. Celkový počet hodnot od každého parametru je 17046 [1].

SYSTEMATIZACE VÝSLEDKŮ DO DATABÁZE MS ACCESS XP [2

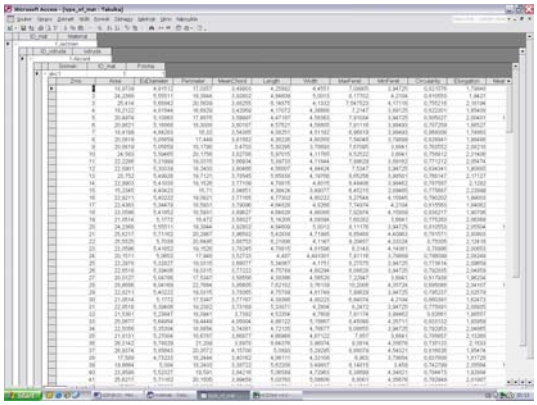
Pro uložení dat do databázové struktury slouží programové vybavení nazývané databázový systém. V našem případě byl použit Microsoft Access, který je vhodný zejména pro tvorbu jednodušších databází a jako základ pro import dat do pokročilejších databázových systémů.

Data byla získána v podobě tzv. FLAT FILE (jedna tabulka obsahující veškerá data, jako výstup z obrazového analyzátoru LUCIA 3.52). Nevýhodou tohoto formátu dat je nepřehlednost a velké množství duplicitních záznamů zvětšující neúměrně velikost datové tabulky. Proto bylo nutné datovou tabulku importovat do databáze a zde rozdělit na více tabulek.Pomocí relací mezi tabulkami je pak možné popsat získaná data. Rozdělení dat do tabulek je zobrazeno na obrázku 1.



Obr.1 **Vytvořené relace mezi tabulkami v databázi**

Databáze byla rozdělena do pěti tabulek. Tabulka Typ Materiálu popisuje o jaký se jedná materiál. Do databáze byla vložena prozatím pouze data z obrazové analýzy sladovnických ječmenů, je ale připravena na další rozšiřování o další typy materiálů. Další tabulky popisují odrůdu materiálu, polohu zrna na obrázku, číslo snímku a tabulku faktů obsahující samotná data pro jednotlivá zrna (číselné údaje).



Obr.2 **Hierarchická struktura tabulek**

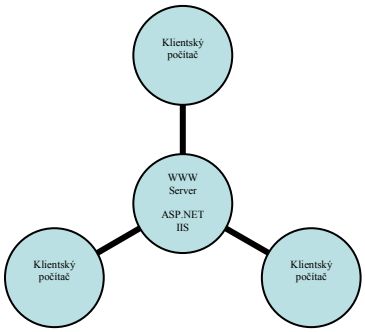
Na obrázku 2 je zachycena hierarchie mezi tabulkami až na úroveň dat pro jednotlivé zrno.
Zachycená hierarchická struktura tabulek je vytvořena na základě relací mezi tabulkami.
Z toho schématu je zřejmá přehlednost celé datové struktury. To nám umožňuje rychle a pohodlně se dostat k požadovaným datům. Zároveň zabírá databáze méně kapacity na datovém médiu a v neposlední řadě je optimalizována na maximální výkon při vyhledávacích operacích.

DOTAZOVACÍ JAZYK NAD DATABÁZÍ – SQL [3

Struktura dat uložená pomocí databázového systému nám poskytuje tzv.datový sklad. K této formě dat lze přistupovat jednak pomocí grafického uživatelského rozhraní (GUI – Graphical User Interface) databázového systému v lokálním režimu a jednak získávat data pomocí ovladačů ODBC (Open Database Connectivity) buď pro externí nadstavbový program nebo v režimu on-line pro prezentaci dat pomocí internetu, případně intranetu v lokální počítačové síti. Příkladem nadstavbového programu může být MS Excel na provádění analýz uložených dat. Pro samotné získávání dat z databázového systému byl firmou IBM vyvinut speciální dotazovací jazyk nazvaný SQL (**S**tructured **Q**uery **L**anguage), který se stal standardem. Tento jazyk slouží k sestavení dotazu, který je předán prostřednictvím ODBC databázovému stroji. Dle dotazu poskytne požadovaná data a předá ovladači ODBC, který slouží jako překladatel pro program požadující data. Tímto způsobem je možné získávat data i pomocí programového kódu obsahující řetězec SQL příkazů a provést propojení zdroje dat s webovou stránkou.

TECHNOLOGIE MS.NET FRAMEWORK A MS INTERNET INFORMATION SERVICES

Technologie .NET představuje vývojovou novinku od firmy Microsoft, někdy též nazývaná ASP.NET. Jedná se o soubor objektů a šablon pro vytváření aplikací. Systém .NET poskytuje veškeré podkladové funkce pro ASP.NET[4. Je používán na zobrazování webových



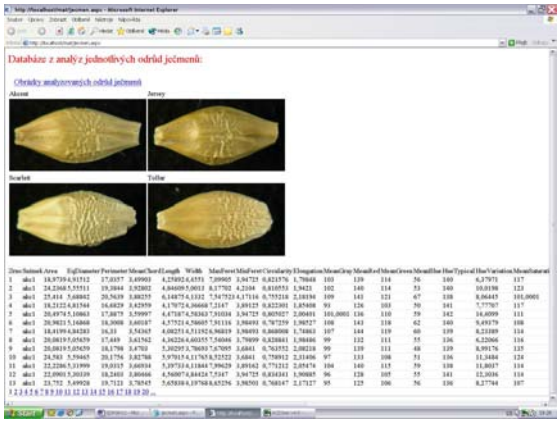
stránek v síti internet (příp. intranet na podnikové úrovni) uložených na počítači, který nazýváme serverem. Základní struktura sítě WWW je zobrazena na obrázku 3:
ASP.NET je z hlediska programátora objektově orientovaný systém. Programový kód stránek napsaný pro systém ASP.NET je možné vyvíjet v jazyce Visual Basic.NET nebo C# (čti C Sharp).NET.
Na základě požadavku klienta o webovou stránku se na serveru spustí programový kód, jehož výsledkem je WWW stránka, která se zobrazí na počítači klienta.
Součástí ASP.NET je systém označovaný jako ADO.NET. Tato součást slouží pro přístup k datům, která jsou uložena v databázi a systém ADO.NET zajišťuje tedy jejich propojení se stránkou WWW a tím jejich prezentaci. Principem je práce s tzv. odpojenou datovou množinou, tedy jakýmsi

Obr 3. **Zjednodušené schéma klient-server v internetu**

obrazem databáze uloženým na serveru. Velkou výhodou tohoto přístupu je jednak bezpečnost dat a jednak menší zátěž serveru a z toho vyplývající výkonnost celého systému, který nemusí v jednom časovém okamžiku obsluhovat mnoho požadavků na data.

PREZENTACE OBRAZOVÝCH A NUMERICKÝCH DAT Z ANALÝZY JEČMENŮ V ASP.NET

Pro prezentaci dat z analýzy sladovnických ječmenů byla využita technologie ASP.NET. V jazyce Visual Basic.NET byl naprogramován kód, který přistupuje pomocí skriptu SQL k databázi a generuje webovou stránku s online datovým obsahem. Z databáze je též získána informace o umístění obrázku na disku serveru. Samotná obrazová data se do databáze neukládají, ale uchovávají se pouze informace o umístění obrazových souborů. Obrázek 4 zachycuje výsledné rozhraní www stránky zobrazené v internetovém prohlížeči.



Na webové stránce se zobrazuje *online* obsah databáze pomocí ovládacího prvku DataGrid (datová mřížka). Ve spodní části datové mřížky jsou vytvořené stránkovací odkazy pro procházení jednotlivých datových stránek. V horní části jsou zobrazeny zástupci jednotlivých odrůd sladovnického ječmene.

Obr 4. **Www stránka s online obsahem databáze**

Datová mřížka umožňuje nejen procházení jednotlivých záznamů, ale též jejich úpravy a mazání. V tomto případě to však není umožněno, neboť se jedná o primární data, která by neměla být modifikována.

PERSPEKTIVY SYSTÉMU ASP.NET [5

Systém ASP.NET je velice výkonný nástroj na tvorbu pokročilých www stránek a aplikací. Jelikož se jedná o relativně novou technologii, čeká na své masovější rozšíření. Do budoucna je plánováno rozšíření aplikace o možnost zasílání obrazových a numerických dat ve formě souborů na databázový webový server přes internet a umožnit tak uživatelům z vědecké obce ukládat data do centrální databáze s následnou prezentací na internetu ve formě informačního portálu. Dále je plánována možnost přidávání dat do centrální databáze přímo přes rozhraní internetu.

ZÁVĚR

Jedním z důležitých kroků obrazové analýzy (nejen obrazové analýzy, ale i chemických analýz poskytujících velké množství dat) je systematizace dat do databáze a uspořádání do přehledné hierarchické struktury. K takto uloženým datům je možné přistupovat nejen pomocí lokální sítě (intranetu), ale i pomocí sítě internet.

Data z analýz ječmenů byla systematizována do přehledné databázové struktury, která umožňuje pohodlný přístup k uloženým datům. Pro přístup k datům byl využit systém ASP.NET s jehož pomocí byla data zobrazena přes webové rozhraní.

Výhody systému ASP.NET :

1. Systém je poskytován zdarma
2. Jedná se o velmi výkonný a stabilní systém
3. Platformová nezávislost, přístup k datů je umožněn jakémukoliv počítači s připojením k internetu a nainstalovaný internetový prohlížeč
4. Odpadá nutnost instalace speciálního software na klientský počítač, stačí pouze internetový prohlížeč

Nevýhody systému ASP.NET :

1. Nutnost instalace na server
2. Nutná znalost programování v jazyce Visual Basic.NET

POUŽITÁ LITERATURA

1. Dobrý J., Pudil F., Grus J.: „Rozlišení odrůd sladovnického ječmene metodou obrazové analýzy“
2. Internetová stránka Microsoft – http://www.microsoft.com/office/access
3. Internetová stránka o SQL – http://www.microsoft.com/sql
4. Payne Ch. – Naučte se ASP.NET za 21 dní, SAMS Publishing – Computer Press Praha 2002
5.Internetová stránka o ASP.NET – http://www.gotdotnet.com

ZTRÁTA MASNÉ ŠŤÁVY A SENZORICKÉ HODNOCENÍ JEHNĚČÍHO MASA

Jandásek J.[1], Milerski M.[2]
1 - Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno
2 - Výzkumný ústav živočišné výroby, Přátelství 815, 104 00 Praha 10 – Uhříněves

Úvod

Jehněčí maso patří mezi doplňkové druhy masa. Spotřeba ovčího masa se dlouhodobě uvádí na úrovni 0,3-0,4 kg/osobu/rok (Horák, 1999). Jehněčí maso (jehňata do 12 měsíců věku) však zaujímá jen její část. Příčiny tak nízké spotřeby lze hledat ve způsobu prodeje v předcházejících letech, kdy bylo maso ovčí a skopové prodáváno často jako maso jehněčí, v neznalosti specifických požadavků na kulinární úpravu a ve velmi malé propagaci. Momentální trend se však ubírá směrem produkce kvalitního jehněčího masa masných hybridů.

Materiál a metody

V experimentu bylo použito maso beránků-hybridů merinových matek a beranů plemen Oxford Down (OD), Texel (T), Charollais (Ch), Suffolk (Sf) a Merinoladschaf (ML), kteří byli odchováni stájovým výkrmem společně s matkami. Beránci byli poráženi v průměrném věku 119,2 dnů při průměrné hmotnosti JUT 16,3 kg. Vzorek byl odebrán 24 hod post mortem ze svalu muscullus longissimus lumborum et thoracis v místě posledních tří bederních obratlů. Byl zvážen s přesností na 0,01 g, uložen při teplotě 2-5 °C po dobu 24 hod. a po uplynutí této doby jemně osušen filtračním papírem a zvážen. Rozdíl hmotnosti byl vyjádřen v %.

Vzorek pro senzorické hodnocení byl připraven pečením v elektrické troubě ve vlastní šťávě. Vlastní hodnocení provedla odborná komise (3 ženy a 3 muži) v senzorických kójích senzorické laboratoře Ústavu technologie potravin na MZLU v Brně. Celkem bylo hodnoceno 77 vzorků. Pro vyjádření byla použita grafická nestrukturovaná stupnice (100 mm). Ze sledovaných deskriptorů jsou prezentovány - vůně, žvýkatelnost, šťavnatost a chuť.

Výsledky a diskuse

Výsledky byly zpracovány ve statistickém programu Unistat. Vztahy mezi ztrátou masné šťávy samovolným odkapání a jednotlivými senzorickými deskriptory byly všechny vysoce průkazné. Průměrná hodnota ztráty masné šťávy činila u všech 77 jedinců 2,17 %, což odpovídá jakostním kritériím daným pro maso normální (1-5%) (Ingr, 1996). Nejnižší hodnotu vykazují hybridi po otci Charollais 1,56 %. Kuchtík et al. (1996) uvádí u téhož plemene hodnotu 4,55-7,82 %. Nejvyšší ztrátu můžeme pozorovat u hybrida po otci Texel 2,73 %. Pro určité porovnání u vepřového masa hybrida (BUxL) x D byla zjištěna hodnota 3,01 % a (BUxL) x OLW 3,12 % (Gál et al., 2000).

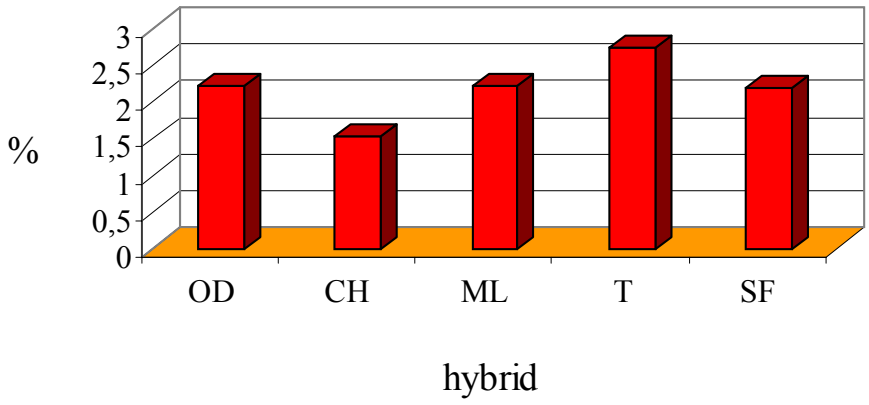
Při senzorickém hodnocení byly posuzovány následující deskriptory – vůně (intenzita cizích pachů), žvýkatelnost (měkkost), šťavnatost a chuť (intenzita cizích příchuti). Hodnocení vůně a chuti bylo zaměřeno na intenzitu výskytu skopového přípachu a příchuti v jehněčím mase. Z uvedených deskriptorů byly nejlépe hodnoceny vůně (32,1 mm), chuť (34,8 mm) a nejhůře šťavnatost (49,2 mm). Největší rozdíly při hodnocení pozorujeme u deskriptorů žvýkatelnosti a šťavnatosti. Nejlépe hodnocenou vůni bez cizích pachů prokázal Suffolk (30,1 mm), nejměkčí tkáň Charollais (34,8 mm), nejšťavnatější Charollais (37,8 mm) a nejlepší chuť bez cizích příchutí Texel (32,5 mm). Z hodnocených hybridů byl nejlépe senzoricky hodnocen hybrid po otci Oxford Down. Potvrzuje to závěry Horáka et al. (2001), který uvádí jak u laické, tak i u odborné komise nejlépe hodnocené plemeno Oxford Down.

Závěr

Závěrem lze konstatovat, že výše uvedená spotřeba jehněčího masa neodráží jeho skutečnou jakost, která je charakteristická mimo jiné nízkou ztrátou masné šťávy samovolným odkapáním (2,17 %) a příznivými senzorickými vlastnostmi (vůně a chuť). Jehněčí maso hybridů po otci Oxfod Down bylo mezi hodnotiteli hodnoceno celkově nejlépe. Mezi ztrátou masné šťávy a sledovanými deskriptory byla při statistickém zpracování zjištěna vysoce významná závislost.

Práce byla provedena podporou Ministerstva zemědělství ČR (Projekt č. EP 9329) a v rámci výzkumného záměru MSM 4321 00001.

Graf č.1. ***Ztráta masné šťávy samovolným odkapáním***



Literatura

GÁL, R. et al.: Jakost vepřového masa nových hybridů. MendelNET 2000, MZLU v Brně, s. 20-21.

HORÁK, F. et al.: Chov ovcí. Brázda Praha, 1999, 168 s.

HORÁK, F. et al.: Senzorické hodnocení masa vybraných masných plemen ovcí chovaných v ČR. Sborník přednášek z mezinárodní konference a setkání chovatelů ovcí a koz, SCHOK Brno 2001, 146 s.

INGR, I.: Technologie masa. MZLU Brno, 1996, 290 s.

KUCHTÍK, J. et al.: Kvalitativní analýza masa jatečných jehňat. Živočišná výroba, 41, 1996 (4): 183-188

HODNOCENÍ JAKOSTI TĚSTOVIN

Kučerová J.
Ústav technologie potravin, MZLU v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Úvod

Těstoviny jsou všeobecně uznávanou potravinou s mnohostranným využitím, nenáročnou přípravou (i po stránce energetické), a s vynikajícím nutričním profilem, který vyhovuje současným požadavkům správné výživy, tj. s nízkým obsahem tuků, minimálním množstvím cholesterolu a sodíku a odpovídajícím podílem komplexních sacharidů a proteinů (Kopáčová, 1994).
Nejkvalitnější těstoviny se ve světě, především v zemích západní Evropy a Ameriky, vyrábí ze semoliny získané semletím pšenice tvrdé *(Triticum durum)*. Ve všech ostatních státech světa se těstoviny vyrábí z mouky pšenice obecné *(Triticum aestivum),* která se používá samostatně nebo v různých poměrech se semolinou. Těstoviny z pšenice obecné se vyrábí často s přídavkem vajec.
Spotřeba těstovin má neustále stoupající trend, a to jak v Evropě, tak i v Americe. Největší spotřeba je v Itálii kolem 30 kg na osobu a rok. V ČR činí tato hodnota asi 4,7 kg těstovin na osobu a rok (Štiková et al., 1999). Většina spotřebitelů v České republice konzumuje těstoviny minimálně jednou za týden. Objevují se nové způsoby úpravy, použití a konzumace těstovin. Rozšiřuje se rovněž sortiment, vyrábějí se z různých surovin, různých tvarů, barvy a chuti, stejně jako zmrazené a plněné, s dlouhodobou trvanlivostí.

Materiál a metodika

Jakost těstovin byla hodnocena u tří českých výrobců a celkem bylo vyhodnoceno 21 druhů. Z jejich širokého sortimentu byly vybrány uvedené výrobky:

- **Výrobce A,** ***v sortimentu bezvaječné, z polohrubé mouky*** (kolínka, vřetena), *v sortimentu* ***bezvaječné těstoviny, z tvrdé pšenice*** (vřetena, vývrtky, mušle, kloboučky)
- **Výrobce B,** *v sortimentu* ***bezvaječné, z polohrubé mouky*** (kolena, vřetena, široké nudle, mušle, fleky), *v sortimentu* ***bezvaječné těstoviny, z tvrdé pšenice*** (vřetena, kolena)
- **Výrobce C,** *v sortimentu* ***bezvaječné, z polohrubé mouky*** (kolínka, vřetena, široké nudle, sukýnky, mušličky), *v sortimentu* ***bezvaječné, z tvrdé pšenice*** (kolínka, roury, copánky)

Těstoviny byly hodnoceny v rámci cvičení předmětů Zpracování obilovin a olejnin a Technologie cereálií. Výrobky posuzovalo 85 studentů třetího ročníku oboru Technologie potravin a oboru Výroba a distribuce potravin.
Mezi vzorky byly zastoupeny ***bezvaječné těstoviny vyrobené z polohrubé mouky a ze semoliny*** (tvrdé pšenice), podle tvaru byly vybrány těstoviny střední velikosti. Posuzovaný materiál byl zakoupen v supermarketech Billa a Delvita v Brně.
U těstovin byla stanovena čistá hmotnost obsahu balení a stanoveny zlomky, příměsi, slepené a popraskané těstoviny, dále byly vyhodnoceny senzorické vlastnosti těstoviny před uvařením a po uvaření. Rovněž byly provedeny zkoušky vařením, a to stanovení bobtnavosti (zvětšení

objemu), vaznosti, vařivosti a výšky sedimentu. Pro tato stanovení byly použity pracovní postupy podle Dudáše a Pelikána (1992).
U každého druhu byly vyhodnoceny dvě spotřebitelská balení a stanoven průměr. Naměřené hodnoty byly porovnány s povolenou odchylkou a při zjištěných rozdílech byla tato hodnota považována za neodpovídající parametr.
U vybraných druhů těstovin bylo provedeno detailní senzorické hodnocení těchto deskriptorů: barvy, vzhledu, vůně po uvaření, lepivosti po uvaření, chuti, odporu při kousnutí, textury, polykání a celkového dojmu, což je součástí bakalářské práce studentky oboru výroba a distribuce potravin.

Výsledky

Skutečný stav čisté hmotnosti obsahu balení by měl odpovídat hmotnosti uvedené na obalu, přičemž se počítá i s možností záporné hmotnostní odchylky. *Přípustná záporná hmotnostní odchylka od uvedené hmotnosti na obalu*, dle prováděcí vyhlášky č.333 Zákona o potravinách a tabákových výrobcích č.110/1997 Sb. *pro hmotnost balení 251 - 500 g je - 4 %.*
Z celkového počtu 21 vzorků neodpovídalo tomuto parametru 6 vzorků, což představuje 28,5 %. U výrobce A toto kritérium splňovaly všechny vzorky, u výrobce B ze 7 druhů neodpovídal jeden (kolena z tvrdé pšenice) a u výrobce C z celkového počtu 8 vzorků toto kritérium nesplňovalo celkem 5 vzorků.

Vzhled a tvar podle prováděcí vyhlášky č.333 má odpovídat tržnímu druhu, spotřebitelské balení nemá obsahovat *příměs jiných tvarů nebo druhů těstovin nad 1 %. Povrch má být hladký, kompaktní, bez trhlin*. U válcovaných těstovin a u těstovin, kde většina povrchu je tvořena řezem, může být povrch mírně drsný a moučný.
U příměsi jiných tvarů, byly přítomny jiné tvary u těstovin výrobce C u druhu sukýnky (17,7 %) a u kolínek (2%).
Nejhorším tvarem byla kolínka (výrobce C), která byla polámaná, deformovaná a špatně stočená. V jednom spotřebitelském balení bylo přítomno 13 % deformovaných kolínek. Rovněž tvar roury (výrobce C) byl špatně stočený a deformovaný. Každá roura byla jinak stočená a jinak dlouhá od 1 do 2,2 cm. U copánků (výrobce C) byl rovněž každý copánek jinak dlouhý, od 1,5 do 5 cm a jinak zamotaný, copánky byly popraskané a ohnuté.
U hodnocení ***popraskaných*** těstovin z celkového počtu 21 vzorků neodpovídalo pět vzorků, což představuje 23,8 %. *U těstovin z pšenice obecné* nesplňoval tvar kolínka (výrobce A), kde bylo 5 % popraskaných a tvar kolena (výrobce B), kde bylo 77,1 % popraskaných těstovin. Vzhled t*ěstovin* z tvrdé *pšenice* všech výrobců byl v souladu s vyhláškou.

Co se týče ***obsahu zlomků*** (vyhláška č.333/1997 Sb. povoluje max. 10% zlomků) nesplňovaly pouze tvary kolínka (22,6 %) a roury (16 %) u výrobce C.

Ve spotřebitelském balení nebyly zjištěny vyšší hodnoty ***slepených těstovin.*** Zjištěné hodnoty nepřesáhly 1 %, ani u jednoho zkoušeného vzorku.

Zkoušky vařením

U hodnocení zvětšení objemu (bobtnavosti) se naměřené hodnoty pohybovaly v rozmezí 3 - 4 násobku, jak je to u těstovin obvyklé.

Vaznost *(množství vody v hmotnostních procentech, které zkoušená těstovina přijala při vaření)* se pohybovala v rozmezí od 130 do 210 %. Nižších hodnot vaznosti dosahují většinou těstoviny krátké.

Vařivost *(doba v minutách potřebná k úplnému uvaření těstoviny)* - skutečná doba uvaření těstoviny u výrobce A odpovídá hodnotám uvedených na obalu, u výrobce B je ve dvou případech ze sedmi vyšší a u výrobce C je v sedmi případech z osmi vyšší, což může být způsobeno charakterem zkoušky.

Výška sedimentu *(objemové množství těstovinové hmoty v ml, uvolněné vařením a usazené v odměrném válci za 1 hodinu)* se pohybuje u bezvaječných těstovin z polohrubé mouky od 140 do 200 ml. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u výrobce C (200 ml). U bezvaječných těstovin z tvrdé pšenice od 70 do 190 ml. Nejlepších hodnot dosahovaly široké nudle výrobce A (70 - 100 ml).

Smyslové hodnocení uvařené těstoviny
Po uvaření se u těstoviny posuzovala lepivost, narušení povrchu a přítomnost cizích pachů a příchutí. ***Podíl slepených těstovin*** byl zjištěn u 9 vzorků, což je 42,8 % a ***narušené těstoviny*** po uvaření byly zjištěny rovněž u 9 vzorků. Nejvíce se lepily těstoviny výrobce C, kde z osmi vzorků nevyhovovaly tři. Co se týká narušení povrchu nejlépe vyhovovaly těstoviny výrobce B.

Závěr

Na základě zkoušeného sortimentu v rámci cvičení studentů bylo zjištěno, že některá spotřebitelská balení neodpovídají skutečnou hmotností obsahu, množstvím popraskaných těstovin, obsahem zlomků a příměsí jiných tvarů prováděcí vyhlášce. Byly prokázány rozdíly u jednotlivých druhů těstovin, a to jak u vařivosti, tak lepivosti a narušení povrchu. Výrobky z pšenice obecné jsou více náchylné k lepivosti než výrobky semolinové. U semolinových výrobků se vyskytuje lepivost pouze v jednom případě, a to u výrobku roury u výrobce C. Z celkového hodnocení podle provedených rozborů, vyplývá, že u některých druhů těstovin je delší doba vařivosti, než je uvedená na spotřebitelských obalech a u těstovin vyrobených z pšenice obecné se na jejich snížené kvalitě podílí i vysoký podíl slepených těstovin po uvaření a změna tvaru. U bezvaječných těstovin velmi závisí na volbě tvaru, který ovlivňuje lepivost a narušení povrchu. Pokud má těstovina točený tvar, tak jej nedrží, rozmotává se a má narušený povrch, což se projeví i na celkovém vzhledu. Nejméně závad bylo zjištěno u výrobků ze semoliny.

Řešeno v rámci projektu FRVŠ 234/1023/2FR127.

Literatura

Dudáš F., Pelikán, M. Využití produktů rostlinné výroby(návody do cvičení). 2.vyd., Brno, MZLU, 1992, 177 s.
Kopáčová, O. Těstoviny v našem jídelníčku. Výživa, březen/duben 1994, roč .49, č.2, s.45.
Štiková, O., et al. Výživa a spotřeba potravin v číslech. Výživa a potraviny, červenec 1999, roč. 54, č. 4, s. 49-72.

Legislativa

Zákon o potravinách a tabákových výrobcích č.110/1997 Sb., prováděcí vyhláška č.333

VYUŽITÍ SPME/GC/MS PŘI STANOVENÍ SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V PIVU A SLADU

Mikulíková R., Prýma J., Havlová P.
VÚPS a.s., Sladařský ústav Brno, Mostecká 7, 614 00 Brno, ČR

Při výrobě sladu dochází v ječném zrnu k chemickým reakcím, jejichž výsledkem jsou senzoricky aktivní látky nebo prekursory těchto látek. Mezi nimi hrají významnou úlohu heterocyklické a sirné sloučeniny.
Z heterocyklických dusíkatých sloučenin jsou ze senzorického hlediska nejvýznamnější alkyl- a alkoxypyraziny, jejichž množství v potravinách závisí na teplotě a pH.
Další významnou skupinou látek, které mohou nepříznivě ovlivnit jakost piva jsou thiazoly. Byly prokázány v řadě potravin, podílejí se na organoleptických vlastnostech, a to někdy rozhodujícím způsobem. Většina z nich má charakteristický pach rostlinného materiálu. Např. benzthiazol pachem připomíná chinolin, i-butylthiazol listy rajčat. Vznikají parně i následkem biochemických procesů, dále sledem reakcí s rozkladnými produkty sirných aminokyselin a sacharidů, respektive obecně karbonylových látek.
Některé z těchto sloučenin mohou svojí senzorickou aktivitou nepříznivě ovlivnit kvalitu piva i v extrémě nízkých koncentracích.
K extrakci senzoricky aktivních látek ze sladu a piva jsme, kromě destilace vodní parou, využili i SPME, jako nové koncentrační techniky.
SPME – Solid Phase Micro Extraction je jednoduchá, rychlá a citlivá technika zakoncentrování analytu, která nepotřebuje rozpouštědla. Tato metoda našla uplatnění v mnoha oblastech analytické chemie, především při analýze těkavých látek a vůní. SPME je založena na sorpci analytů na povrchu křemenného vlákna, které je pokryto aktivní vrstvou sorbentu nebo polymeru. Vlákno může být ponořeno do kapaliny (DI-SPME) nebo v provedení „head-space“ (HS-SPME). Zachycené látky jsou z vlákna termicky desorbovány na analytickou kolonu v nástřikovém bloku plynového chromatografu.
Pro zakoncentrování senzoricky aktivních látek ze sladu a piva jsme použily jak provedení HS-SPME tak i DI-SPME.
K identifikaci jednotlivých vyextrahovaných komponent jsme použili spojení GC-MS.

Tabulka uvádí charakteristiku vůní vybraných identifikovaných sloučenin:

Sloučenina	**Vůně**
Acetaldehyd	čpavá, dráždivá
Acetic acid, 2-phenyl ester	dráždivá, štiplavá
Alpha-caryophyllene	terpénová, kořeněná
Benzthiazol	hořká, gumová
Decanoic acid, ethyl ester	mastná, žluklá
Ethyl acetat	etherová
Hexanoic acid, ethylester	sladká
3-Methyl-1-butanol	po whisky (přiboudlina)
3-Methyl-1-butanol acetat	ovocná
Octanoic acid, 2-phenyl ester	olejová, mastná
2-Pentyl furan	rostlinná, po zelených fazolích

VLIV KMENE KVASNIC NA TVORBU OXIDU SIŘIČITÉHO PŘI PIVOVARSKÉM KVAŠENÍ

Bláha M., Veselý P., Basařová G.
Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Souhrn

V průběhu modelových fermentací se třemi kmeny kvasnic při teplotách 7 ^{o}C, 10 ^{o}C a 13 ^{o}C byl stanoven obsah oxidu siřičitého, počet buněk ve vznosu, hodnoty pH a oxido-redukční kapacity. Obsah oxidu siřičitého dosahoval svého maxima vždy v 96. hodině hlavního kvašení, pak byl zaznamenán u všech kmenů mírný pokles. Nejvyšší maxima oxidu siřičitého byly zjišťovány u kmene č. 2. Průběh růstových křivek jednotlivých kmenů během kvašení byl závislý na teplotních podmínkách. Se vzrůstající teplotou se na dané růstové křivce zvyšovala maxima. Mezi jednotlivými kmeny nebyl zaznamenán výrazný rozdíl, pouze mírné tendence k vyšším hodnotám u kmene č. 7 a nižším u kmene č. 2. V průběhu poklesu pH nebyly zjištěny podstatné rozdíly v závislosti na teplotě.
Hodnoty oxido-redukční kapacity rostly při kvašení se všemi třemi kmeny kvasnic do 96. hodiny fermentace, to znamená v souladu s využitím kyslíku a intenzívním nárůstem biomasy.

Úvod

Oxid siřičitý v pivu pochází především z metabolismu sirných sloučenin pivovarskými kvasinkami v průběhu kvašení. Svými antimikrobiálními, antioxidačními a redukčními vlastnostmi chrání pivo především od negativního vlivu rozpuštěného kyslíku a řady karbonylových sloučenin[1,2,3]. Toto dokazuje i jeho schopnost inhibovat tvorbu chemiluminiscence, z čehož vyplývá schopnost vychytávat aktivní kyslík a tím inhibovat radikálové reakce[4,5]. Za průměrnou prahovou hodnotu detekce oxidu siřičitého v pivu se udává 20 mg.l^{-1}. Při vyšších koncentracích oxidu siřičitého (nad 30 mg.l^{-1}) již dochází k trvalým nežádoucím změnám chuti piva[2]. Na tvorbu oxidu siřičitého při kvašení mají podstatný vliv vlastnosti příslušného kmene kvasnic[6], zákvasná dávka, koncentrace mladiny, teplota kvašení, provzdušnění mladiny, délka kvašení, tlak a obsah sulfátů v mladině[7,8,9,10]. V této práci se kromě tvorby oxidu siřičitého sledovaly také změny počtu buněk ve vznosu a pH. Zaznamenávaly se rovněž hodnoty oxido-redukční kapacity. V současné době se oxid siřičitý nejčastěji stanovuje destilačně-titrační metodou[11], kolorimetricky[3] a plynovou chromatografií[12].

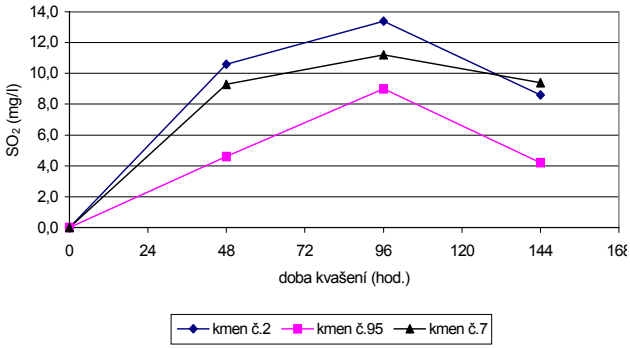
Materiál a metody

Produkce oxidu siřičitého se sledovala u tří kvasničných kmenů spodních pivovarských kvasinek *Saccharomyces cerevisiae subsp. uvarum* označených ve sbírce Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského (VÚPS) Praha č. 2, č.7 a č. 95. Kvasné zkoušky se prováděly s 12 % mladinou., surogace nesladovaným ječmenem činila 17 %. K zakvašení byly použity kvasnice odebrané z propagačních stanic tří pivovarů. Mladina byla před zakvašením provzdušněna protahováním na výslednou koncentraci 8,0 mg O_2/l. Hlavní kvašení probíhalo v otevřených kvasných válcích, kde objem zakvašované mladiny byl ve všech případech 35 litrů. Zákvasná dávka činila pokaždé 10 mil. buněk/ml. Hlavní kvašení se vedlo při teplotách 7 ^{o}C, 10 ^{o}C a 13 ^{o}C. Při kvašení vedeném při 7 ^{o}C byly sledovány vlastnosti pouze u kmenů č. 2 a č. 7. Odběr vzorků k analýzám byl prováděn před zakvašením a dále po dobu 8 dnů resp. 7 dnů ve 48 hodinových intervalech. Oxid siřičitý byl stanovován destilačně-titrační metodou podle analytiky EBC, počet buněk ve vznosu , hodnoty pH a oxidačně-redukční kapacity byly stanoveny podle postupů uvedených v pivovarsko-sladařské analytice.

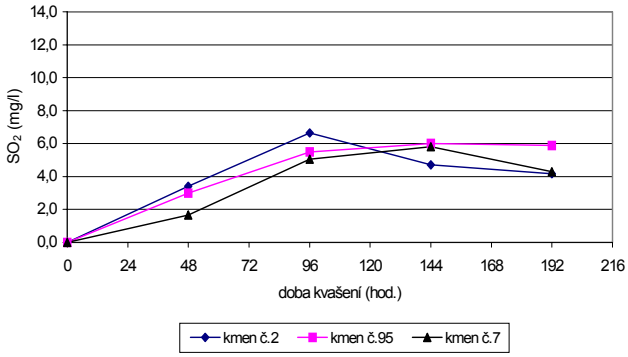
Diskuse výsledků

U všech tří kvasničných kmenů byl v prvních 96 hodinách hlavního kvašení zaznamenán nárůst obsahu oxidu siřičitého v kvasící mladině. Právě v 96 hodině kvašení bylo dosahováno maxima obsahu oxidu siřičitého se všemi třemi kmeny kvasnic. Po této době hladina SO_2 převážně klesala. V prvních 96 hodinách hlavního kvašení dominoval v tvorbě SO_2 kmen č.2. Při hlavním kvašení vedeném při teplotě 13 °C (Obr. 1) byl zaznamenán vyšší nárůst maxim oxidu siřičitého oproti kvašením vedeným při teplotách 10 °C (Obr. 2) a 7 °C (Obr. 3). Vliv kvasničných buněk ve vznosu na tvorbu SO_2 nebyl jednoznačně prokázán. Z průběhu růstových křivek lze usoudit na zřejmý vliv teploty na průběh hlavního kvašení. Při vyšších teplotách hlavního kvašení se výrazně zkracovala lag-fáze na minimum a byl zjištěn vyšší nárůst biomasy (Obr. 4, 5, 6). Nejnižších hodnot pH v průběhu modelových fermentací dosahoval kmen č. 7, následoval kmen č. 2 a vyšších hodnot pak dosahoval kmen č. 95 (Obr. 7). Průběh hodnot oxido-redukční kapacity koreloval ve všech případech modelových fermentací s průběhem změn v hodnotách oxidu siřičitého (Obr. 8,9,10). Nárůst oxido-redukční kapacity v prvních 96 hodinách kvašení lze spojit s nárůstem biomasy a tím snížením množství rozpuštěného kyslíku v kvasícím mediu.

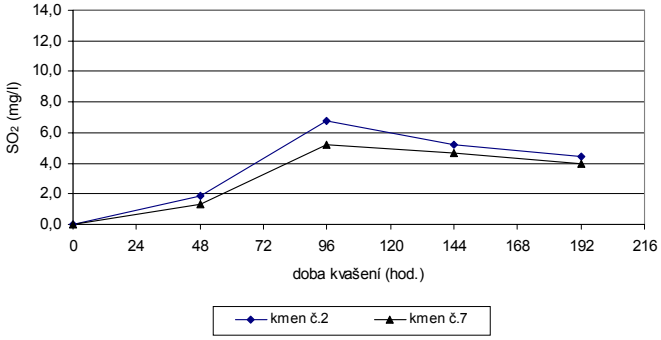
Obr. č. 1: Průběh hodnot oxidu siřičitého při hlavním kvašení vedeném při teplotě 13 °C



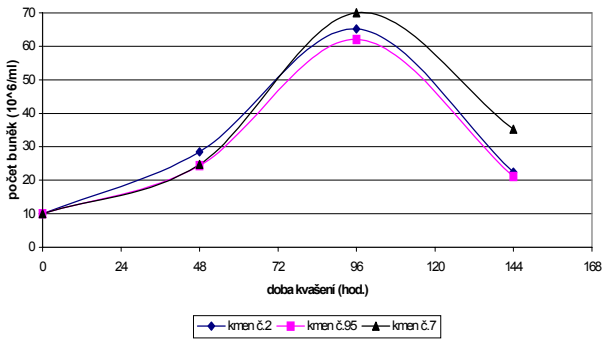
Obr. č. 2: Průběh hodnot oxidu siřičitého při hlavním kvašení vedeném při teplotě 10 °C



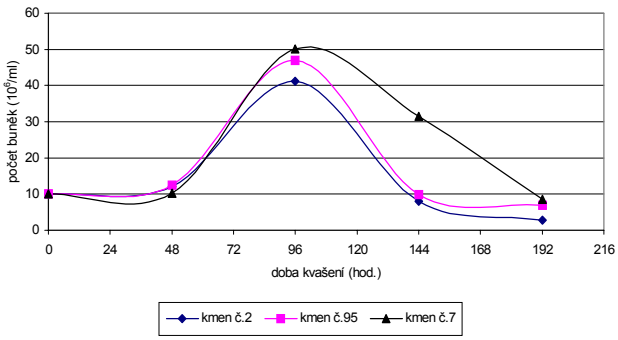
Obr. č. 3: Průběh hodnot oxidu siřičitého při hlavním kvašení vedeném při teplotě 7 °C



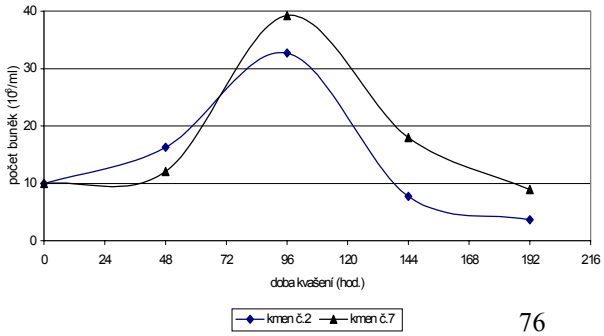
Obr. č. 4: Počet buněk ve vznosu během hlavního kvašení při teplotě 13 °C



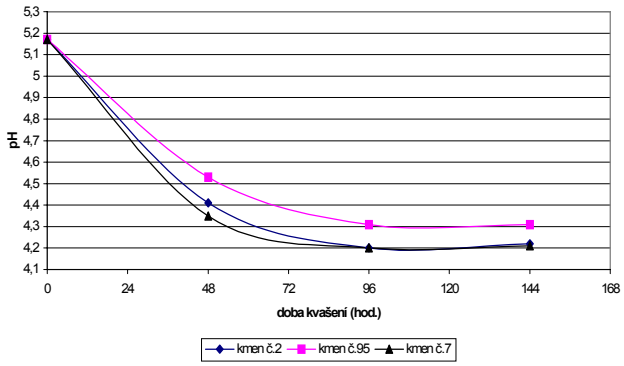
Obr. č. 5: Počet buněk ve vznosu během hlavního kvašení při teplotě 10 °C



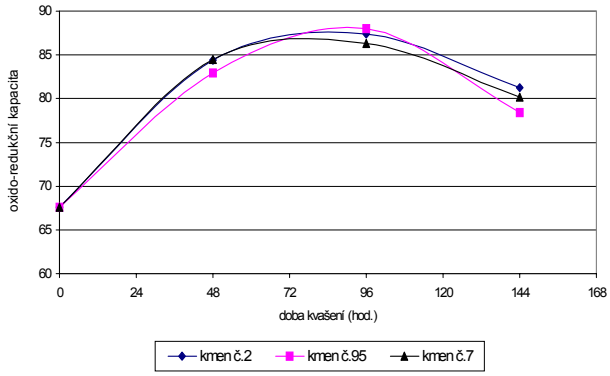
Obr. č.6: Počet buněk ve vznosu během hlavního kvašení při teplotě 7 °C



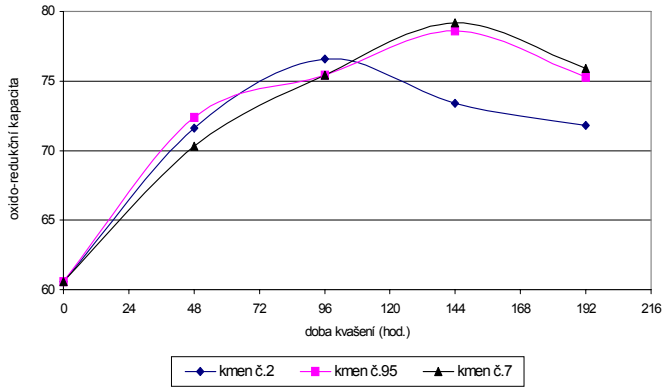
Obr. č.7: Průběh hodnot pH během hlavního kvašení při teplotě 13 °C



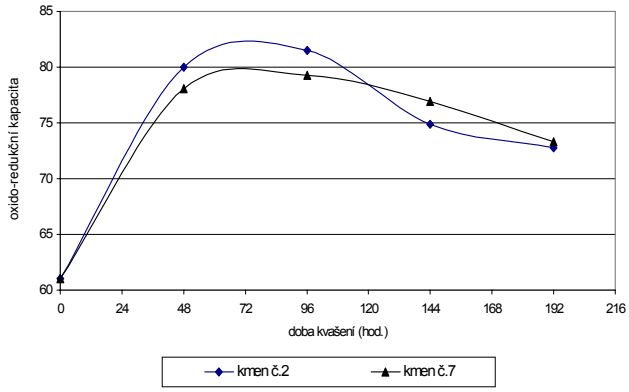
Obr. č. 8: Průběh oxido-redukční kapacity během hlavního kvašení při teplotě 13 °C



Obr. č. 9: Průběh oxido-redukční kapacity během hlavního kvašení při teplotě 10 °C



Obr. č.10: Průběh oxido-redukční kapacity během hlavního kvašení při teplotě 7 °C



Literatura

1. Basařová, G., et al.: Kvasny Prum., 43 (6), 1997, s. 164.
2. Illet, D., R.: Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am., 32 (4), 1995, s. 213.
3. Fernandes, S., M., V., Rangel, A., O., S., S.: J. Inst. Brew., 104 (7/8), 1998, s. 203.
4. Kaneda, H., et al.: J. Inst. Brew., 97 (3/4), 1991, s. 105.
5. Kaneda, H., et al.: 24th Convention Proceedings, 1996, s. 116.
6. Hansen, J., Kielland-Brandt, M., C.: Proc. 25th EBC, Brussels 1995, s. 319.
7. Basařová, G., et al.: Kvasny Prum., 29 (6), 1983, s. 121.
8. Narziss, L.: Brauwelt, 45, 1995, s. 2286.
9. Basařová, G., Mikyška, A.: Kvasny Prum., 28 (10), 1982, s. 218.
10. Forster, C., Back, W.: Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am., 37 (1), 2000, s. 59.
11. Narziss, L., et al.: Brauwelt, 49, 1995, s. 2576.
12. Lowe, L., E., Dreyer, T.: Proc. 26th EBC, Maastricht 1997, s. 649.
13. Lowe, L., E., Dreyer, T.: Proc. 26th EBC, Maastricht 1997, s. 649.

VLIV TECHNOLOGIE HGB NA VLASTNOSTI VYRÁBĚNÉHO PIVA

Čížková H., Dobrý J., Fiala J., Vernerová J., Šídlová M.
Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6, e-mail: hana.cizkova@vscht.cz

Uvedení problematiky

Termín HGB znamená technologii výroby piva založenou na přípravě mladin o vysoké koncentraci (High Gravity Brewing), jejich následném kvašení a event. ředění hotového piva odplyněnou vodou (High Gravity Blending) na požadovaný extrakt původní mladiny /1/. Původně se jako HGB označovala výroba mladiny s koncentrací extraktu nad 13 % hm., přičemž se nerozlišovala mladina nad 12 % hm. (high gravity worts) a 18 % hm. (very high gravity worts). Zmíněný proces je v současnosti také označován jako HGP (high gravity process).

Původ postupu je v USA v období po 2. světové válce a nyní je zde touto technologií vyráběno více piva než způsobem konvenčním zahrnujícím obvykle výrobu piv 10-12 %. Ke značnému nárůstu dochází zároveň i v Evropě a Asii.

Hlavní výhodou HGB procesu je možnost výrazného zvýšení produkce bez nutnosti rozšíření existujících varních, kvasných a ležáckých zařízení a flexibilita v typu výrobku, kdy vysokostupňové pivo lze prodávat či ředit upravenou vodou na různé koncentrace. Vyplývající ekonomické přednosti (nižší spotřeba varní vody, úspora energie) jsou provázeny i určitým zlepšením fyzikálně-chemických vlastností piv, zjemněním chuti, možností vyšší surogace a vyšším množstvím vzniklého ethanolu na jednotkové množství zkvasitelných sacharidů /2/. Nevýhody HGB zahrnují nižší výtěžek extrakce pivovarsky cenných (dusíkatých) a chmelových látek, který je doprovázen poklesem stability pěny /3/. Především je však kvašením výšekoncentrovaných mladin ovlivněna aktivita /vitalita/ kvasinek na základě rozdílné míry jejich ethanol- a osmo- tolerance a tím následně průběh kvašení, zejména z hlediska tvorby senzoricky aktivních látek /4/.

Současná výroba HG piv se ve světě ustálila mezi stupňovitostí 15-16 % hm. V ČR je dnes většina pivovarů vybavena zařízením na konečnou úpravu stupňovitosti piva, menší část naopak vyrábí vysokostupňová piva jako konečný produkt technologií odpovídající HGB bez konečného ředění. Jako příklad lze uvést pivovar Náchod (24 % tmavé, 21 % světlé, 15 % světlé), Pardubice (19 % tmavé), Brno (16 % světlé, 15 % červené), Černá Hora (15 % světlé).

Cíl práce

Předmětem experimentální práce bylo studium průběhu kvašení z hlediska změn obsahově významných látek a v závislosti na koncentraci mladin v laboratorním a čtvrtprovozním měřítku. Hodnocení bylo zaměřeno na využití hlavních sacharidických a dusíkatých látek extraktu, se zaměřením na utilizaci volných aminokyselin. Dále byla sledována tvorba ethanolu a senzoricky významných látek ovlivňujících organoleptický profil piva, tj. těkavých látek /vyšších alkoholů, esterů a mastných kyselin/, vicinálních diketonů a oxidu siřičitého. Měření aktivity kvasinek acidifikačním testem bylo aplikováno k posouzení vitality a viability násadních kvasnic a kvasnic sebraných.

Podmínky experimentální práce

Podmínky experimentální práce byly následující: kvasné zkoušky proběhly v laboratorním (10 l kvasné válce) a čtvrtprovozním měřítku (otevřené kvasné kádě v technologické hale ÚKCHB) při teplotě 13°C. Ověřované mladiny měly koncentrace 12%, 16% a 20% hm. Použitým kmenem kvasinek byly spodní pivovarské kvasinky Saccharomyces *cerevisiae*

subs. uvarum var. carlsbergensis, hlubokoprokvašující kmen č.95, odebírané z provozu pivovaru. Zákvasné dávky jsou voleny podle koncentrace mladiny v rozsahu 12–22.10^6 buněk/ml. Proces hlavního kvašení a dokvašování byl veden do dosažení zdánlivého prokvašení cca 80 %.
Analýzy byly prováděny metodikou EBC /5/, použitou přístrojovou techniku představoval Spektrofotometr Schimadza UV-2100, UNICAM 5625 UV/VIS spectrofotometr, Automatický analyzátor aminokyselin T 339, HPLC fa.Watrex, GC fa.Hewwlett-Packard.

Výsledky a závěr
Získané výsledky (Tab.I-II, Obr. 1-6) lze z hlediska průběhu kvašení a sledovaných obsahově významných látek piva shrnout následujícím způsobem:

- Kvašení vysokokoncentrovaných mladin představuje specifický proces promítající se v hodnocených parametrech různou měrou na kvalitě vyráběného piva.
- Výsledky aktivity kvasinek prokázaly dobrý fyziologický stav násadních kvasnic. Po kvašení 16% i 20% mladin byl u sebraných kvasnic pozorován mírný pokles aktivit. To potvrzuje určité stresové působení vysoké koncentrace mladin a potřebu výběru osmo- a ethanoltolerantních kmenů kvasinek pro HGB proces.
- Zvýšení koncentrace mladin představovalo prodloužení doby hlavního kvašení o 24 až 48 hodin.
- Obsah vzniklého etanolu vzrostl u mladin s koncentrací 20 % o 70 až 80 % původního množství, s konečnými hodnotami 40 – 70 g/l.
- Zbytkový obsah zkvasitelných sacharidů v pivu se zdvojnásobil z cca 4,5 g/l na 11 g/l.
- Ve využití aminokyselin se prokazatelně projevil vliv koncentrace mladin, kdy zvýšení koncentrace vyvolalo pokles utilizace aminokyselin z cca 50 % u 12% mladin na 30 až 40 % u mladin výšekoncentrovaných.
- Obsah senzoricky aktivních vicinálních diketonů byl v hotových i výšestupňových pivech nízký a ležel pod prahovou hodnotou vnímání.
- Koncentrace mladin vedla k nárůstu celkové produkce těkavých látek až u nejvýšekoncentrovaných 20 % mladin. Ovlivnění obsahu jednotlivých skupin těkavých látek (vyšších alkoholů, esterů a mastných kyselin) nebylo jednoznačné.
- Při kvašení výšekoncentrovaných mladin docházelo k intenzivnější tvorbě oxidu siřičitého.
- Z hlediska senzorického vjemu byla výšestupňová piva hodnocena jako dobrá až prostřední (subjektivní dojem v mezích 3,44-4,44). Piva upravovaná (ředěná na požadovanou stupňovitost) měla hodnocení dobré až celkem dobré.

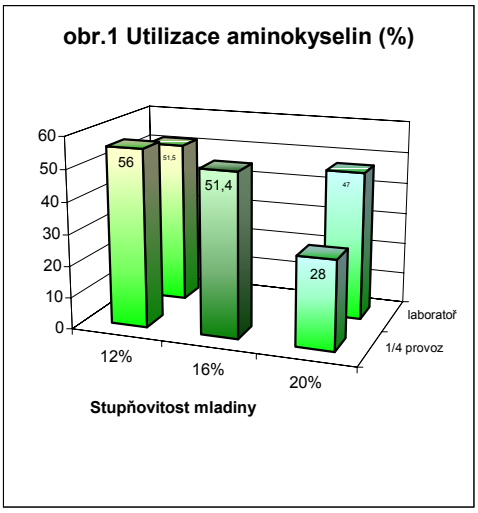
Použitá literatura
(1) KOUKOL R., *"HIGH GRAVITY BLENDING"*, Brauwelt 139 (8), 1999, s.312-314
(2) STEWART G.G.,BOTHVICK R., "RECENT DEVELOPMENT IN HIGH GRAVITY BREWING", Tech.Q.Master Brew. ASSoc. Am. 34 (1), 1997, s. 264-270
(3) TAKAHASHI S., HASHIMOTO N., *"EFFECT OF WORT PLATO AND FERMENTATION TEMPERATURE ON SUGAR AND NITROGEN UPTAKE AND VOLATILE COMPOUND FORMATION"*, Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am., 34 (3), 1997, s. 156-163
(4) HAGGART H., "*FACTORS AFFECTING YEAST VIABILITY AND VITALITY",* Tech. Q. Master Brew.Assoc. Am. 36 (4), 1999, s.383-406
(5) Q.*"ANALYTICA EBC" ,* ISBN 3-418-00759-7,1998

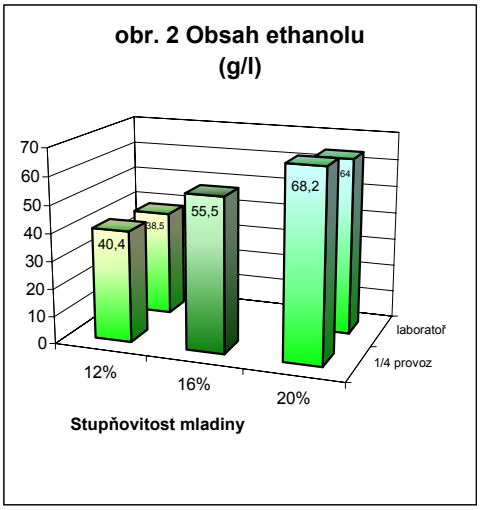
Tab.I Aktivita kvasinek

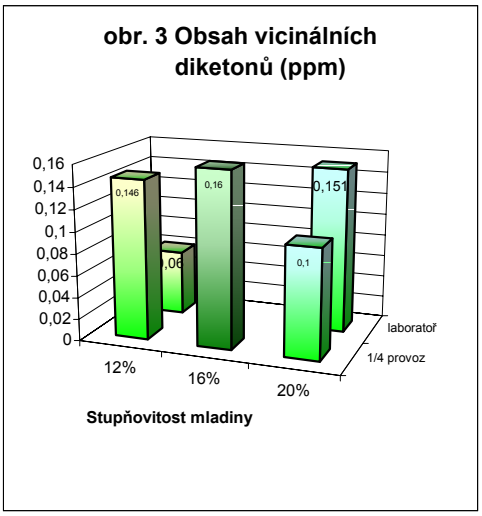
HODNOTY ACIDIFIKAČNÍHO TESTU	MLADINY NÁSADNÍ	12%	16%	20%
Laboratorní měřítko	2,83	3,01		2,68
Čtvrtprovozní měřítko	3,03	2,67	2,94	2,79

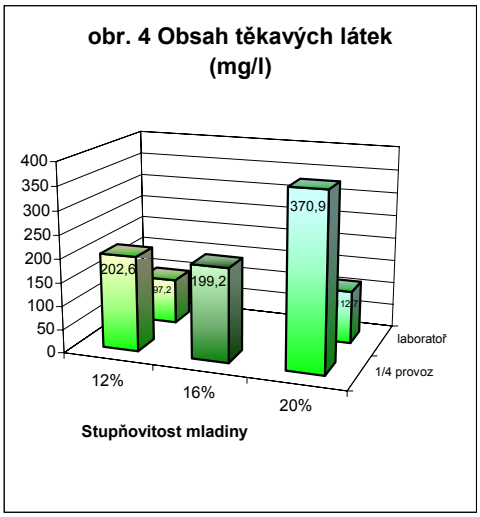
Tab.II Těkavé látky v pivu

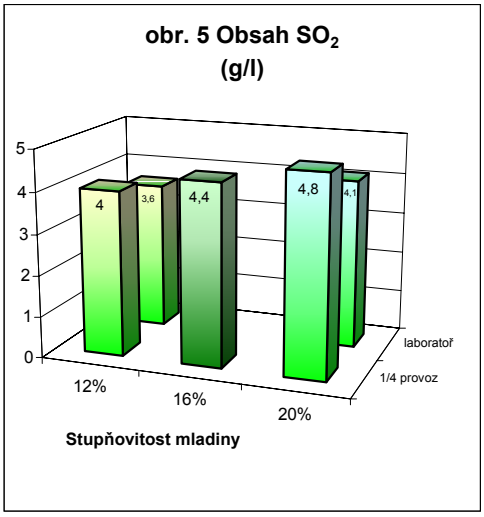
OBSAH TĚKAVÝCH LÁTEK (mg/l)	MLADINY	12%	16˘%	20%
Laboratorní měřítko	Kyseliny	10		43,9
	Vyšší alkoholy	79,9		56,8
	Estery	7,2		11,6
Čtvrtprovozní měřítko	Kyseliny	30,5	16,3	44,1
	Vyšší alkoholy	125,7	136,3	253,4
	Estery	46,3	46,4	73,2

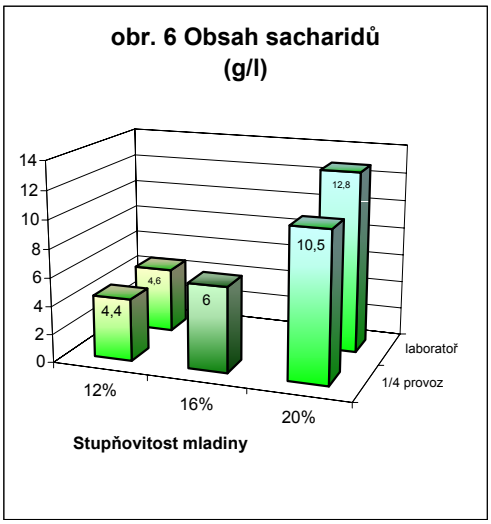

obr.1 Utilizace aminokyselin (%)
60
50
40
30
20
10
0
56
51,5
51,4
47
28
laboratoř
1/4 provoz
12%
16%
20%
Stupňovitost mladiny


obr. 2 Obsah ethanolu (g/l)
70
60
50
40
30
20
10
0
40,4
38,5
55,5
68,2
64
laboratoř
1/4 provoz
12%
16%
20%
Stupňovitost mladiny


obr. 3 Obsah vicinálních diketonů (ppm)
0,16
0,14
0,12
0,1
0,08
0,06
0,04
0,02
0
0,146
0,16
0,151
0,1
laboratoř
1/4 provoz
12%
16%
20%
Stupňovitost mladiny


obr. 4 Obsah těkavých látek (mg/l)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
202,6
97,2
199,2
370,9
laboratoř
1/4 provoz
12%
16%
20%
Stupňovitost mladiny


obr. 5 Obsah SO2 (g/l)
5
4
3
2
1
0
4
3,6
4,4
4,8
4,1
laboratoř
1/4 provoz
12%
16%
20%
Stupňovitost mladiny


obr. 6 Obsah sacharidů (g/l)
14
12
10
8
6
4
2
0
4,4
4,6
6
10,5
12,8
laboratoř
1/4 provoz
12%
16%
20%
Stupňovitost mladiny

REDUKCE OBSAHU PLYNNÝCH EFLUENTŮ VZNIKAJÍCÍCH PŘI CHMELOVARU

Šídlová M., Čepička J., Pivoňka J., Svobodová J.
Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6, 168 22
e-mail: Martina.Sidlova@vscht.cz

Úvod

Chmelovar je jednou z nejdůležitějších operací pivovarské technologie, neboť vytváří předpoklady pro dosažení požadovaných kvalitativních vlastností piva. Je-li při chmelovaru dostatečně velká teplosměnná plocha hydrofilní složky odcházejících par kondenzují a vytvářejí brýdový kondenzát. Oproti tomu hydrofobní brýdové složky odcházejících par, ke kterým patří některé aromatické složky chmele, dostatečně nekondenzují a odcházejí v podobě zbytkového plynu. Kondenzáty pocházející z párníku mladinové pánve obsahují oxidované produkty silic, DMS a jeho prekurzory a nesmí stékat do varní nádoby, protože piva vyrobená z mladin do kterých stékaly brýdové kondenzáty nejsou chuťově harmonická a vykazují ulpívající hořkost.

Brýdový kondenzát je složen z více než 99 % z vody, kromě toho obsahuje nejméně 160 různých organických látek, aldehydů, alkoholů, alkanů, esterů, furanů, ketonů, terpenů. Pro zjištění obsahu organických složek je vhodnou metodou stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK).

Adsorpce je jednou z metod jak odstranit organické složky z brýdových kondenzátů a zbytkového plynu. Adsorbenty je možné rozdělit na přirozené a umělé. Přirozené adsorbenty reprezentují hlavně zeolity, hlinky, saze, umělé adsorbenty jsou: aktivní uhlí, oxid titaničitý, porézní sklo a kovy v jemném práškovém stavu.

Významné vlastnosti adsorpčních materiálů jsou: polarita, specifický povrch, BET povrch (je míněn celkový povrch pórů), objem adsorpčních pórů, sypná hmotnost, zdánlivá hustota a skutečná hustota.

Modelové laboratorní chmelovary

Hlavní částí experimentu byly laboratorní chmelovary při nichž byly použity chmelové granule z jemných aromatických odrůd chmele Žatecký poloraný červeňák a Premiant, jež jsou pro oblast České republiky typické, dále hlávkový chmel odrůdy Bor a Žatecký poloraný červeňák a v neposlední řadě CO_2 chmelové extrakty z vysokoobsažného chmele odrůdy Matným a Tomahawk (USA), které jsou typické pro zahraniční oblasti. U všech chmelů a chmelových výrobků byl předem stanoven celkový obsah silic a obsah α-hořkých kyselin. Pro laboratorní chmelovary byla použita instantní sladina - Sladěnka, jejíž koncentrace se upravovala pitnou vodou na zhruba 11 % hm. Objem várek činil 2 litry. Množství dávkovaného chmele, bylo přepočítáno na obsah 9 g α-hořkých kyselin na hektolitr mladiny, což je běžně používaná dávka chmele v českých pivovarech. Chmelení probíhalo na dvakrát a to hned na začátku chmelovaru bylo dávkováno 70 % celkové dávky a v šedesáté minutě 30 % celkové dávky. Chmelovar trval 90 minut a průměrný odpar činil 10 %.

Při sledování časového průběhu obsahu organických složek v brýdovém kondenzátu se ukázalo, že nejvyšší koncentrace organických látek je v prvních 15 minutách. Dále se zvýší vždy po přidání druhé dávky chmele, což je v 60.minutě.

Kinetika adsorpčního procesu

Poté byla provedena série modelových chmelovarů, kde byl jímán kondenzát, s nímž se testovala kinetika adsorpčního procesu jednotlivých sorbentů a jejich účinnost.

Použité sorbenty byly:

K sorpci bylo použito celkem 13 adsorbentů:

- drcený koks o rozměrech 0,4 – 0,63 mm,
- drcený koks 0,63 – 1 mm,
- drcený koks 1 - 2 mm,
- aktivní koks HOK,
- aktivní uhlí SC 40,
- aktivní uhlí FB 4,
- aktivní uhlí WS,
- aktivní uhlí Acticarbone A35,
- aktivní uhlí GA 4,
- aktivní uhlí Chezacarb RG,
- zeolit A,
- hrubě mletý klinoptilolit,
- křemelina F4.

Aktivní uhlí s vyjímkou Chezacarbu RG bylo ve formě pelet o průměru asi 4 mm a délce do 10 mm. Chezacarb RG byl vyroben jako pelety o průměru 1 mm a délce až 20 mm. Aktivní koks HOK se vyrábí drcený. Zeolit A tvořily kuličky o velikosti asi 2 mm. Zeolity jsou přírodní hlinitokřemičitany. kterých je známo asi 30 druhů vyskytujících se v přírodě. Adsorpční vlastnosti jsou určovány především uspořádáním jejich krystalické struktury. Křemelina F4 byla dodána v práškové formě a byla vybrána z důvodu snadné dostupnosti v pivovarském provoze, kde se používá při filtraci piva.

Sorpční jednotku tvořila skleněná kolona s fritou o průměru 2 cm, v níž byl naneseno 3 g sorbentu. Kondenzát byl ponechán po dobu 5 až 60 minut v kontaktu se sorbentem. Následně byl stanoven obsah organických látek a z jeho rozdílu před a po průchodu sloupcem sorbentu byla vypočtena účinnost jednotlivých sorbentů.

Závěr

Na základě adsorpční kinetiky byl hledán sorbent, který jednak redukuje obsah organických látek nejúčinněji tzn. dle požadavků na ochranu životního prostředí, kde pro pivovary je stanovena vyhláškou hodnota max. CHSK 200 mg O2 /l./5/ Zde se jevily jako nejlepší tyto sorbenty: koks (0,63-1 mm), aktivní uhlí SC 40, koks (1-2 mm a 0,4-0,63 mm). Na druhé straně se hledal sorbent, který redukuje obsah organických látek z časového hlediska nejvýhodněji, tedy v minimálním čase. Zde se ukázaly nejlepší tyto sorbenty: koks (0,63-1 mm), aktivní uhlí SC 40, koks (1-2 mm). Z uvedených výsledků se jevily jako nejlepší sorbenty po všech stránkách koks □0,63-1 mm a aktivní uhlí SC 40 s nimiž budou prováděny další testy.

PRŮTOKOVÁ CYTOMETRIE V PIVOVARSTVÍ

Fiala J., Bláha M., Novák J., Sližová M., Čížková H., Vernerová J.
Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: jaromir.fiala@vscht.cz

Souhrn

Během minulých let bylo navrženo několik metod hodnotících kvalitu pivovarských kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a umožňujících biomonitorování fermentačního procesu, čímž napomáhají k zvyšování kvality a standardnosti finálního výrobku. Jednou z těchto metod je fluorescenčně optická metoda průtokové cytometrie, pomocí níž lze získat informace o základních charakteristikách buněčné populace, metabolismu, dynamice buněčného růstu a fermentačních schopnostech v průběhu výrobního procesu. Umožňuje tak celý proces lépe kontrolovat, řídit a usnadňuje jeho optimalizaci [1].
Metoda průtokové cytometrie je v této práci využita ke sledování změn obsahu intracelulárních komponent (DNA), velikosti a granularity dvou provozních kmenů pivovarských kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* v průběhu hlavního kvašení 12%, 16% a 20% mladiny. Dále je využita ke stanovení životaschopnosti kvasinek barvením fluorescenčním barvivem – propidium jodid. Byl zjištěn rozdíl buněčného cyklu při odlišné koncentraci mladiny a použitém kmenu, což umožňuje užití této metody k hodnocení aktivity kvasinek ve velmi krátkém časovém úseku.

Úvod

Průtoková cytometrie je metoda, která umožňuje získat informace o intracelulárních komponentech buňky (bílkovin, nukleových kyselin, sterolů a řady dalších látek barvitelných fluorescenčními barvivy), o buněčném transportu látek (např. léčiv), kontaminantech životního prostředí, buněčném cyklu, buněčné smrti a v neposlední řadě i o velikosti buněk, tvaru, životaschopnosti, intracelulárním pH, případné kontaminaci aj. [2,3].
Principem měření při průtokové cytometrii je průchod jednotlivých buněk po sobě světelným paprskem a detekce efektů, které světlo při průchodu buňkou může vyvolat. Je možné analyzovat pouze jednotlivé buňky nikoliv shluky nebo agregáty buněk. Shluky nebo agregáty buněk je třeba před vlastní analýzou mechanicky nebo enzymaticky rozvolnit. Proud tekutiny, obsahující suspenzi analyzovaných buněk se nastříkne do proudu vody, fyziologického roztoku nebo pufru.
Světelný zdroj, kterým je obvykle laserový paprsek, je zaostřen na proud, nesoucí vzorek. Jednotlivé buňky při průchodu světelným paprskem světlo pohlcují, způsobují jeho rozptyl nebo emitují fluorescenční záření. Tyto jevy jsou jednotlivě detekovány fotonásobiči a registrovány pomocí pulzního analyzátoru. Buňky mohou být analyzovány při velmi vysokých rychlostech, dosahujících až několik tisíc buněk za sekundu.
Výsledkem analýzy je histogram, který ukazuje rozložení jednotlivých měřených parametrů v rámci buněčné populace. Jestliže se současně měří v jediné buňce více než jeden parametr, je výsledkem analýzy multidimensionální histogram nebo funkce četnosti rozložení, což umožňuje vytvoření lepšího obrazu o celé populaci [3].
V podmínkách technologického procesu je činnost pivovarských kvasinek do určité míry negativně ovlivňována stresovými faktory. Jedním z významných stresových faktorů je vysoká koncentrace mladiny, používána v technologii HGB (High Gravity Brewing). Za těchto podmínek způsobují vysoké koncentrace mladiny osmotický stres kvasnic. Důsledkem zkvašování vysokých koncentrací mladiny je vysoký obsah ethanolu, jehož vliv na kvasinky se označuje jako ethanolový stres [4,5,6].

Úspěšná fermentace vysoce koncentrovaných mladin je závislá na schopnosti kvasinek rychle se přizpůsobit danému prostředí. Vznikající problémy mohou být řešeny použitím vhodných kvasničných kmenů (osmo- a ethanoltolerantních), použitím vyšších dávek kvasnic, vyšších kvasných teplot a výkonnější aerace mladiny než při klasickém kvašení mladin s nižší koncentrací. Tolerance várečných kvasnic vůči stresu během kvašení HG mladin je kmenově závislá [6].

Experimentální část

Mladina byla připravena na varní soupravě v technologické hale ÚKCHB. K její přípravě byl požit předek, vyrobený v pivovaru. Pro přípravu sladiny byl použit dvourmutový postup s kondicionovaným šrotováním. Chmelilo se nadvakrát hlávkovým chmelem Premiant (ročník 2000). Připravená mladina byla upravena na požadovanou koncentraci (12%, 16% a 20%) ředěním vodou a před zakvašením provzdušněna.
V práci byly použity spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* , kmen č.95 a kmen č.2 (jedenkrát vedené).
Čtvrtprovozní kvasné zkoušky probíhaly v otevřených skleněných válcích o objemu 50 litrů při teplotě 13°C [7,8].
Pyknometricky byl stanoven zdánlivý extrakt, skutečný extrakt a obsah ethanolu. Obsah aminodusíku byl stanoven spektrofotometricky reakcí s ninhydrinovým činidlem [9]. Acidifikační test byl proveden podle Kary a spol. [10], obsah trehalosy byl stanoven upravenou extrakční metodou podle Paulové [11] a stanovení glykogenu spektrofotometrickou metodou podle Quaina a Tubba [12].
Vzorky na stanovení obsahu DNA průtokovou cytometrií byly bezprostředně po odebrání fixovány v 70% ethanolu a po promytí a odstředění naředěny na koncentraci 10^6 buněk/ml a dále inkubovány v roztoku RNasy o koncentraci 50 $\mu g.ml^{-1}$ při 37°C. Ke vzorku byl přidán Propidium jodid o konc. 1 $mg.ml^{-1}$ a po promytí byl vzorek analyzován průtokovým cytometrem - PARTEC Particle Analysing Systém PAS III (Partec GmbH, Germany) s Ar-Ion laserem pro 488 nm excitaci. Kontrola fluorescence byla provedena fluorescenčním mikroskopem Nikon Eclipse E 400 s epi-fluorescenčním nástavcem [8].

Diskuse výsledků

Rostoucí koncentrace mladiny se projevila jako negativní faktor mající za následek pomalý nástup buněčného cyklu, zvýšené odumírání buněk, zvýšenou akumulaci zásobního polysacharidu glykogenu a ochranného sacharidu trehalosy (tab.I a tab.II).

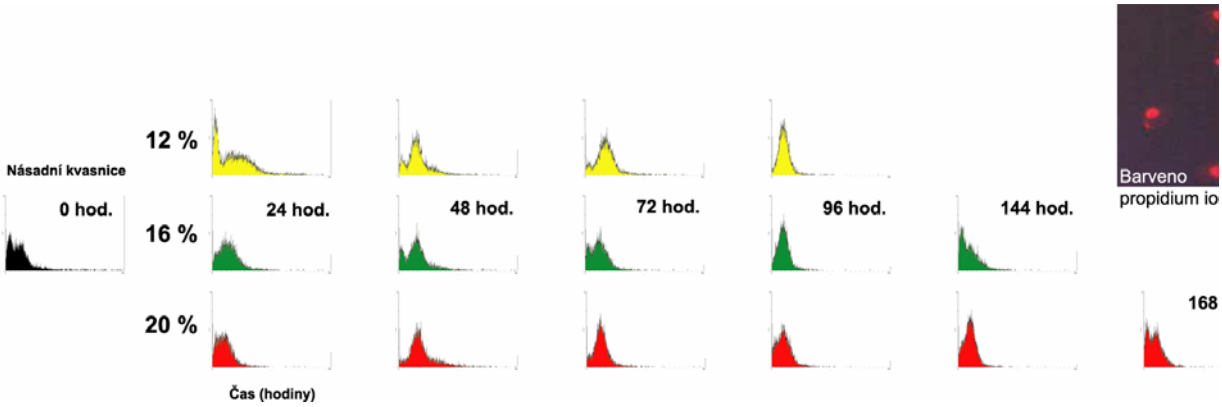
Tab. I - **Analytické parametry kvasnic – kmen č.95**

Sledovaný analytický parametr	Násadní kvasnice	Sebrané kvasnice 12% mladina	Sebrané kvasnice 16% mladina	Sebrané kvasnice 20% mladina
AP_{celk}	3,03	2,67	2,94	2,79
Glykogen (% hm. s.)	16,7	2,7	5,8	15,4
Trehalosa (% hm. s.)	4,8	2,3	3,2	5,1

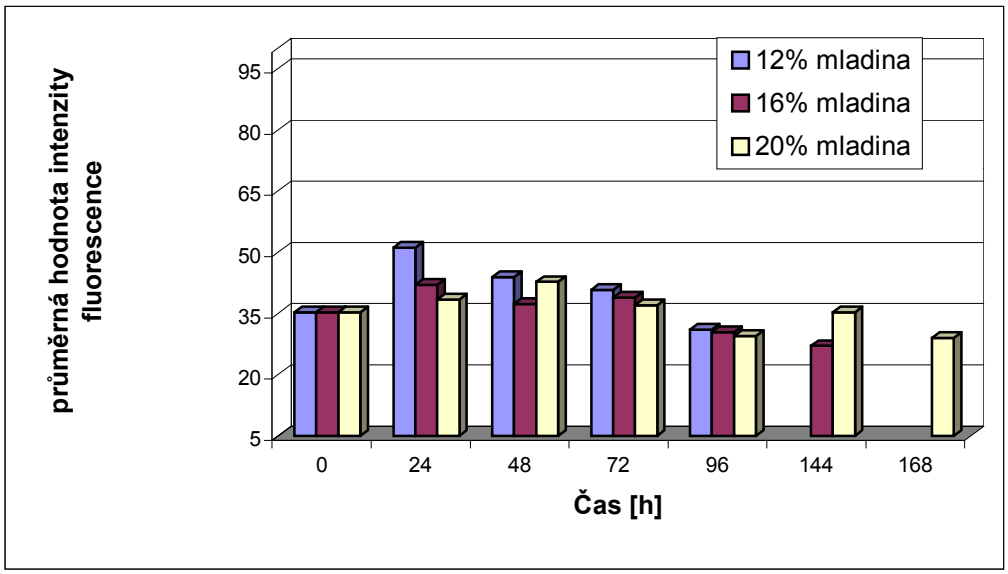
Tab. II - **Analytické parametry kvasnic – kmen č.2**

Sledovaný analytický parametr	Násadní kvasnice	Sebrané kvasnice 12% mladina	Sebrané kvasnice 16% mladina	Sebrané kvasnice 20% mladina
AP_{celk}	2,37	2,64	2,79	2,96
Glykogen (% hm. s.)	0,1	2,0	13,4	15,7
Trehalosa (% hm. s.)	1,3	0,9	1,8	1,7

Pomalý nástup buněčného cyklu ve 20% mladině (obr.1) způsobuje nízkou růstovou rychlost na počátku kvašení, což vede k prodloužení doby hlavního kvašení. Vyšší podíl buněk v G2-fázi v násadních kvasnicích urychluje iniciaci buněčného cyklu, což způsobuje rychlé pomnožení buněk a následné rychlé odbourání extraktu. Zvýšené množství nižších sacharidů v koncentrovaných mladinách vede k hromadění glykogenu v kvasničných buňkách.



Obr. 1 - **Změna relativní intenzity fluorescence během hlavního kvašení, úměrná obsahu DNA - histogramy**



Obr. 2 - **Změna relativní intenzity fluorescence během hlavního kvašení, úměrná obsahu DNA**

Výsledky hodnocení kvašení prokazují, že při kvašení HGB se projevují kmenové rozdíly mezi kmenem č. 95 a č. 2. kmen č. 95 vykazoval vyšší hodnoty dosažitelného prokvašení na všech koncentracích, než kmen č. 2 (tab III a tab IV).

Tab. III – **Složení mladého piva – kmen č.95**

Analytický parametr	12%mladina	16% mladina	20% mladina
Zdánlivý extrakt (% hm.)	3,10	4,23	6,04
Zdánlivé prokvašení (%)	75,4	73,8	69,7
Skutečný extrakt (% hm.)	5,70	7,62	8,99
Skutečné prokvašení (%)	54,8	52,8	54,8
Ethanol (g l^{-1})	39,5	44,0	54,0
Aminodusík (mg l^{-1})	103,4	136,0	168,8
pH	4,30	4,36	4,51

Tab. IV – **Složení mladého piva – kmen č.2**

Analytický parametr	12%mladina	16% mladina	20% mladina
Zdánlivý extrakt (% hm.)	2,72	3,70	5,90
Zdánlivé prokvašení (%)	78,0	77,2	70,8
Skutečný extrakt (% hm.)	4,71	6,21	8,80
Skutečné prokvašení (%)	61,8	61,7	56,5
Ethanol (g l^{-1})	39,3	53,0	61,2
Aminodusík (mg l^{-1})	107,4	167,2	259,4
pH	4,60	4,77	4,87

Nejvyšší hodnotu zdánlivého prokvašení vykazovala u kmene č. 95 16% mladina a u kmene č. 2 12% mladina. Vyšší hodnoty zdánlivého prokvašení na konci kvašení u všech koncentrací při použití kmene č. 2 ukazují, že tento kmen prokvašuje pomaleji, za nižší tvorby ethanolu. Sedimentace byla u obou kvasničných kmenů nejhorší na 20% mladině. U kmene č. 2 byl sledován menší počet mrtvých buněk v sebraných kvasnicích. Obsah trehalosy rostl s rostoucí koncentrací a byl nižší než u kmene č. 95, což koreluje s počtem mrtvých buněk Nižší počet mrtvých buněk a nižší obsah trehalosy ukazuje na lepší adaptaci kmene č. 2 na stresové podmínky. Obsah glykogenu byl srovnatelný s kmenem č.95.
Průtoková cytometrie se jeví jako velmi vhodná metoda ke studiu morfologických a fyziologických vlastností pivovarských kvasinek v průběhu kvašení.

Literatura

[1] Hutter, K. J.: J. Inst. Brew., **72**, 2001
[2] Müller, S. et al.: Acta Biotechnol. **12**, 1992
[3] Porro, D. et al.: Proceedings of the 6th European Congress on Biotechnology, **577**, 1994
[4] Steward, G. G.: Brewers' Guardian, **31**, 1999
[5] Steward, G. G.: J. Inst. Brew., 73**, 2001**
[6] Pátková, J., Šmogrovičová, D.: Kvasný Prům., **47**, 2001
[7] Dobrý, J.: Diplomová práce, VŠCHT Praha, 2001
[8] Sližová, M.: Diplomová práce, VŠCHT Praha, 2001
[9] Basařová, G. et al.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkapta Praha,1992
[10] Kara, B.V. et al.: J. Inst.Brew., **94**, 1998
[11] Paulová, L.: Disertační práce, VŠCHT Praha, 1995
[12] Quain, D. E. et al.: J. Inst. Brew. , **89,** 1983

MODEL PRO ZRYCHLENÍ PROCESU SCEZOVÁNÍ PŘI VÝROBĚ PIVA

Palmi P.[1], Dostálek P.[1], Votruba J.[2], Šídlová M.[1]
1-Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6, 166 28
2-Mikrobiologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, Praha 4, 142 20

ÚVOD:

V této práci byla věnována pozornost procesu scezování jako operaci, která je z časového hlediska nejnáročnější na varně. Následuje po velkém množství dějů převážně biochemických, ale na rozdíl od nich je dějem fyzikálním. Z pohledu chemického inženýra se jedná pouze o filtraci, kde filtrační vrstvu tvoří samotná pevná fáze – mláto.

Jak je všeobecně známo pivo se vyrábí s vody, sladu a piva. V první fázi dochází ke smíchání sladu s vodou, čemu se v pivovarské praxi říká vystírání, dále pak následuje rmutování, při němž se převedou v optimální míře extraktivní látky sladu do roztoku a vzniká rmut, ze kterého je potřeba oddělit kapalnou fázi – sladinu od fáze pevné – mláta. Tato operace se nazývá scezování. Dále pak následuje chmelovar, chlazení, kvašení a filtrace.

V současné době, kdy vzrůstají nároky nejen na kvalitu výrobku, lidského jedince a především jeho znalostí, ale i na ekonomičnost výroby je nutné zkrátit dobu procesu výroby piva. Proto v této práci byla věnována pozornost procesu scezování jakožto operaci, která je na varně z časového hlediska nejnáročnější. Cílem této práce bylo získání a vyhodnocení dat z procesu scezování ve scezovací kádi a porovnání sladů ze sladoven Nymburk a Chrudim. Scezovací káď měla průměr 6,3 metru; kypřící zařízení bylo tvořeno čtyřramennou kopačkou s Lenzovými noži; průměrná výška filtračního koláče činila cca 30 cm, přičemž sypání na přípravu 10% mladiny 5000 kg a na 12% mladinu 6000 kg sladu.

Prostřednictvím řídícího systému scezovací kádě byl pozorován průběh samotného procesu, jež byl charakterizován těmito parametry (výška kopačky, tlaková diference, zákal a průtok sladiny).

VÝCHOZÍ PŘEDPOKLADY:

K tomu, abychom se mohlo kvantitativně popsat to co se děje při scezování bylo nutno vytvořit matematický model. Jaké byly výchozí předpoklady:

- 1. Axiom – makroskopická bilance energie což nám popisuje Bernouliho rovnice, rychlost vyprazdňování scezovací nádrže je určena sací výškou a příslušnou charakteristikou čerpadla.
- 2. Axiom – hydrodynamika vrstvy sladu ve vztahu k čerpání sladiny, ta se řídí d'Arcyho zákonem pro laminární proudění v zrnité vrstvě výplně. Hydraulický odpor vrstvy mláta závisí na časově proměnlivé geometrii stlačitelné pevné fáze.
- 3. Axiom – mechanika vrstvy sladu, kterou popisuje modifikovaný Hookův zákon pro vrstvu zrnité výplně, přičemž hustota pevné fáze stoupá jinak úměrně době scezování a jednak lineárně s tlakovým gradientem.
-

VYVOZENÍ MODELU:

Zavede-li se pro zjednodušení pojem filtrační odpor R, můžeme výše uvedené vztahy přepsat do tvaru v němž neznámé parametry označíme symbolem k. Symbol Δp nahradíme celkovým podtlakem na sání čerpadla a lineární rychlost filtrace objemovou rychlostí čerpání q.

$\Delta P / \rho g = k_3 - k_4 q^2$ Přepsaná Bernouliho rovnice

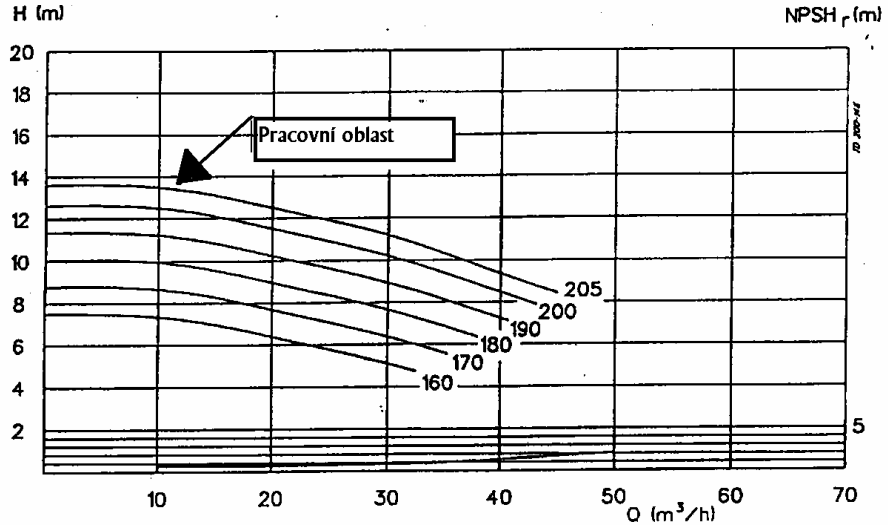
První člen na pravé straně je úměrný energii čerpání, druhý ztrátě tlaku na sání čerpadla.

$q = \Delta P / R$ Přepsaný d´Arcyho zákon

$dR/dt = k_1 + k_2 R$; $R(0)=R_o$ Přepsaná modifikace Hookova zákona.

První člen na pravé straně popisuje vzrůst tlakové ztráty v důsledku sedimentace mláta, druhý pak růst odporu v důsledku stlačování vrstvy mláta prouděním sladiny a tlakovým rozdílem vyvolaným čerpadlem

Při popisu charakteristiky čerpání je čerpací rychlost téměř konstantní s tím, že po každém prokopání vrstvy mláta je rychlost čerpání o něco vyšší. Konstantní čerpací rychlost v určité fázi scezování si lze vysvětlit tím, že čerpadlo pracuje v oblasti, kde je jeho charakteristika málo citlivá ke změnám odporu v sací i výtlačné části jak snadno nahlédneme z připojeného obrázku.



VÝSLEDKY:

<u>Scezování sladiny pro pivo 10°</u>

Při scezování sladiny pro pivo 10° bylo monitorováno celkem 43 šarží. Z toho jen ve dvou bylo nezbytné prokopávat vrstvu mláta 2x v ostatních případech to bylo jen 1x. Jako typické pro scezování sladiny pro pivo 10° v dvoufázovém procesu byly identifikovány tyto parametry modelu.

<u>První fáze:</u>

Čas:	0-0,95 ± 0,11	hod
Čerpání :	5,77 ± 0,1	litr/s
Filtrační odpor na počátku:	0	
k_1	3,14 ± 0,7	
k_2	0,98 ± 0,4	

<u>Druhá fáze:</u>

Čas:	1,16-1,9 ± 0,06	hod
Čerpání :	7,42 ± 0,1	litr/s
Filtrační odpor na počátku:	7,34 ± 1,4	
k_1	0,0	
k_2	1,47 ± 0,4	

Scezování sladiny pro pivo 12°

Při scezování sladiny pro pivo 12° bylo monitorováno celkem 64 šarží. Typická šarže probíhala ve 4 fázích, což znamená, že vrstva mláta byla minimálně 3x prokopávána. Několik atypických šarží bylo nutno prokopat 5x až 6x.

První fáze:

Čas:	0-0,59 ± 0,06	hod
Čerpání :	5,71 ± 0,13	litr/s
Filtrační odpor na počátku:	0	
k_1	3,29 ± 0,9	
k_2	2,58 ± 1,1	

Druhá fáze:

Čas:	0.69-0,93 ± 0,08	hod
Čerpání :	5,77 ± 0,39	litr/s
Filtrační odpor na počátku:	7,0 ± 1,6	
k_1	0.0	
k_2	4,8 ± 1,4	

Třetí fáze:

Čas:	1,05-1,31 ± 0,14	hod
Čerpání :	7,8 ± 0,2	litr/s
Filtrační odpor na počátku:	7,83 ± 1,1	
k_1	0.0	
k_2	3,4 ± 1,8	

Čtvrtá fáze:

Čas:	1,42-1,87 ± 0,12	hod
Čerpání :	8,41 ± 0,4	litr/s
Filtrační odpor na počátku:	7,63 ± 1,6	
k_1	0.0	
k_2	1,7 ± 0,7	

ZÁVĚR:

Z výsledků vidíme, že pro 10° a 12° sladinu je v první fázi hydrodynamický režim aparátu ovlivněn v počátečním údobí dobou usazování mláta a v konečném údobí pak jeho stlačováním. Parametry lineárního údobí a čerpání jsou co do hodnoty prakticky stejné, efekt stlačování vrstvy je však dvojnásobný u 12° sladiny, což ve svém důsledku vede ke zkrácení první fáze na polovinu. Patrně zde hraje roli množství sladu použitého pro várku. Další fáze scezování jsou charakteristické tím, že se zde uplatňuje pouze příspěvek k hydraulickému odporu daný stlačováním prokopané vrstvy mláta. Vliv kopání má ve všech fázích stejný účinek, který se projeví v prakticky stejné hodnotě počátečního hydraulického odporu v rozmezí hodnot 7-8. Parametr k_2 se v jednotlivých po sobě jdoucích fázích snižuje, úměrně vzrůstu rychlosti čerpání, což lze přisoudit poklesu hustoty a viskozity sladiny (klesající obsah sacharidů) v průběhu a závěru vyslazování. Byly zjištěny konstanty popisující vzrůst tlakové ztráty v důsledku sedimentace mláta a konstanty popisující nárůst odporu v důsledku stlačování vrstvy. Ty mohou být zanesena do expertního systému jenž zkrátí dobu scezování.

MYKOTOXINY V PIVOVARSKÝCH SUROVINÁCH A JEJICH SOUVISLOST S GUSHINGEM.

Havlová P. [1], Radová Z. [2], Hajšlová J. [2]
1 VÚPS a.s., Sladařský ústav Brno, Mostecká 5, 614 00 Brno
2 VŠCHT Praha, Ústav chemie a analýzy potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6

Gushing (spontánní přepěnění piva při otevření láhve) je závažným problémem pivovarského průmyslu v celosvětovém měřítku. V poslední době je gushing výraznou hrozbou i pro kvalitu českého piva a sladu. Gushing je považován za komplex vzájemných vztahů mezi pivovarskými surovinami (ječmen-slad) a potenciálně mnohými jinými technologickými parametry. Nicméně za nejvýznamnější faktor ovlivňující přepěňování je považován **sladovnický ječmen** (označuje se jako primární gushing). Důvodem je napadení ječmene **toxinogenními plísněmi** (rod ***Fusarium, Alternaria, Aspergillus, Penicillium*** atd.). Tyto plísně mají schopnost produkovat mykotoxiny .
Mykotoxiny, toxické sekundární metabolity mikroskopických hub (plísní), patří mezi jedny z nejzávažnějších přírodních kontaminantů potravinářských surovin a krmiv. Jsou příčinou mykotoxikóz nejen u zvířat, ale i u člověka. Mezi akutní příznaky patří nechutenství, úbytek na váze, krvácivost, odumření tkáně zažívacího traktu, popř. smrt organismu.
Mezi nejčastěji se vyskytující plísně v průběhu vegetačního období ječmene řadíme plísně rodu *Fusarium*, především ***Fusarium culmorum*** a ***F. graminearum***. Tyto dva druhy patří mezi hlavní producenty **trichothecenových mykotoxinů** (především deoxynivalenolu (DON) a nivalenolu (NIV), tj. trichothecenů typu B). Při sladování ječmene se vytvářejí vhodné podmínky pro rychlý mikrobiální a plísňový růst s následnou produkcí mykotoxinů. **DON** je převládajícím mykotoxinem nalézaným na ječmeni .
Prezentované výsledky projektu byly zaměřeny na zjištění vztahu mezi **obsahem DON** v ječmeni, sladu a **gushingem**. Byl testován vliv předplodin a fungicidního ošetření na hladiny DON ve sladovnickém ječmeni a jednotlivých meziproduktech výroby piva (slad). Pro tento účel byly rostliny ječmene infikovány suspenzemi spór *Fusarium culmurum* (10^6 spor / ml) v polovině doby kvetení a následně byly aplikovány různé fungicidní prostředky potlačující růst plísňových mycelií. Vzorky ječmene a sladu byly analyzovány na obsah DON, respektive dalších trichothecenových mykotoxinů, a gushingový potenciál.

Závěr:

1. Korelace mezi gushingem a DON v ječmeni a ve sladu nebyla nalezena
2. Hodnoty DON a gushingu jsou vyšší po předplodině KUKUŘICE než po předplodině cukrovce a obilovině
3. Naměřené koncentrace DON jsou vyšší ve sladu než v ječmeni
4. Aplikace fungicidů neměla vliv na produkci mykotoxinů
5. Z porovnání výsledků z let 2000 a 2001 vyplývá, že hodnoty gushingu jsou v roce 2001 vyšší než v roce 2000, ale hodnoty DON jsou v roce 2001 nižší než v roce 2000. Tuto skutečnost je možné vysvětlit nestejnou infikací *F.graminearum* a *F.culmorum* v uvedených letech.

Výzkum v této oblasti i nadále pokračuje.

Tato studie byla realizována v rámci PROJECT QC 0069 (2000 – 2004) „ Mykotoxiny hub rodu *Fusarium* na ječmeni a pšenici a ochrana proti nim“, financováno českým Ministerstvem zemědělství.

www.vscht.cz

EU projekt **FLAIR FLOW4**

www.flair-flow.com

PŘÍNOS EVROPSKÉHO VÝZKUMU PRO SPOTŘEBITELE, ODBORNÍKY VE ZDRAVOTNICTVÍ A PRO PRŮMYSL

FLAIR-FLOW 4 je projekt, podporovaný Evropskou komisí v rámci "5. rámcového programu: Quality of Life and Management of Living Resources"
1. klíčové akce: ***Potraviny, výživa a zdraví***
Cílem vytvořené informační sítě, zahrnující 24 evropských států, je rozšiřovat výsledky potravinářského výzkumu v oblasti potravinářských technologií, výživy, hygieny, bezpečnosti potravin ...

Cílové skupiny:
Malé a středně velké podnikatelské subjekty (výrobci a prodejci potravin)
Skupiny konzumentů (spotřebitelé)
Odborníci na výživu, hygienu a zdravotní nezávadnost potravin

1. DISTRIBUCE

Šíření informací o výsledcích evropského výzkumu v oblasti potravinářství, výživy, bezpečnosti potravin a potravinářských technologií
Jednostránkové dokumenty (informace o konkrétních výzkumných projektech a kontakty na řešitelská pracoviště)
Syntetické zprávy (přehledy výsledků z výzkumných projektů v určité oblasti)

2. DIALOG

Založení diskusního fóra zaměřeného na aktuální problémy na národní úrovni
Organizace konferencí na vybraná témata
Zpětná vazba od uživatelů informací pro další směřování evropského výzkumu

Informace a kontakty:

http://www.flair-flow.com

Projekt: **FFE4**
Číslo: QLK1-CT-2000-00040

Koordinátor projektu:
Mr. Jean-Francois QUILLIEN
INRA-CRIAA (Francie)

Národní stránky
Vysoká škola chemicko-technologická, Praha
Ústav chemie a analýzy potravin
http://www.vscht.cz

http://flairflow4.vscht.cz
e-mail: flairflow@vscht.cz

Národní zástupce projektu:

Dr. Ing. Věra Schulzová
Vera.Schulzova@vscht.cz
tel.: 2435 3218

Prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.
Jana.Hajslova@vscht.cz
tel/fax: 2435 3185

Doc. Ing. Vladimír Kocourek, CSc.
Vladimír.Kocourek@vscht.cz
tel/fax: 2435 3185

HODNOCENÍ JAKOSTI JATEČNĚ UPRAVENÝCH TĚL

Pipek P.[1], Jeleníková J. [1], Haberl A. [1], Bohuslávek Z. [2]
1-Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 166 28 Praha 6
2-Česká zemědělská universita Praha, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6

Kvalita hovězího masa je posuzována z různých hledisek. Pro konzumenta je důležitá chutnost, křehkost a barva, pro technologa má význam pH a schopnost masa vázat vodu. Všechny tyto vlastnosti souvisí se složením masa a s průběhem posmrtných změn v mase. Snaha objektivizovat hodnocení jakosti jatečně upravených těl skotu vede k hledání nových metod pro jejich klasifikaci. Vedle subjektivních způsobů zhodnocení konformace, vývinu svalstva a podílu tuku se tak dostávají do popředí objektivní metody založené na analýze obrazu, sonografii a elektrických vlastnostech.

Jednou z nových metod pro klasifikaci jatečně upravených těl skotu je i bioelektrická impedanční analýza (BIA) /Bohuslávek 2002a,b/. Některé vlastnosti jatečných těl skotu mohou výsledky BIA ovlivnit nebo s nimi souviset. Jde zejména o postmortální pokles pH, texturu (křehkost), obsah intramuskulárního tuku a barvu masa. Uvedené veličiny pak jsou závislé nejen na genetickém vybavení a intravitálních vlivech, ale i na zacházení se zvířaty bezprostředně před porážkou a na technologii vlastní porážky.

Nejnápadnější, snadno sledovatelnou změnou je dynamika přeměny svalového glykogenu na kyselinu mléčnou, což má vliv na hodnotu pH masa. Tato hodnota (pH) je nejen snadno měřitelná, ale má i velkou vypovídací schopnost o biochemických změnách post mortem. Existuje přitom významná spojitost mezi pH, barvou, vazností a texturou masa. Pokud je pH v blízkosti isoelektrického bodu, bývá vaznost nejnižší a barva masa je nejsvětlejší. Je to ovlivněno menší rozpustností bílkovin v okolí isoelektrického bodu, světlo se odráží od povrchových vrstev a vytváří dojem světlejšího masa. Naopak vyšší pH bývá spojeno s tmavou barvou /Pipek 1995/.

Většinou bývá dávána přednost jasně červené barvě hovězího masa před barvou tmavou. Tmavá barva přitom bývá způsobena myopatií DFD. Příčiny takových myopatií jsou obecně známé - nesprávné zacházení se zvířaty, spotřebování glykolytického potenciálu a nedostatečné okyselení svaloviny. Barvu výrazně ovlivňují také intravitální vlivy, pohlaví, věk atd. Obsah hemových barviv u starších zvířat je vyšší, a maso je tedy tmavší než u jedinců mladších (Pinkas 1982).

Ke vzniku DFD odchylky dochází tehdy, pokud je obsah glykogenu ve svalu nízký. Zvířata mohou vyčerpat velký podíl glykogenu ve svalu fyzickou námahou během přepravy nebo stresem vyvolaným těsně před porážkou. Také samotný akt omráčení může vyvolat zrychlený metabolismus a vzniklá kyselina mléčná je odvedena krevními cestami během vykrvení ze svaloviny (Pipek 1995). Vzniklé maso může být extrémně až černofialové, na řezu suché a tedy velmi vazné (Ingr 1996).

DFD maso váže více vody, svalová vlákna jsou nabobtnalá, povrch méně rozptyluje dopadající světlo a maso je tmavší (Hamm 1972). DFD maso lze rozpoznat na základě měření pH 24 hodin post mortem (pH_{24}), obvykle se za DFD maso považuje takové, jehož pH_{24} je větší než 6,2 (Honikel 2000).

Za změny pH, a tedy za kvalitu masa, je zodpovědná řada intravitálních vlivů. Ustájení zvířat před porážkou je určeno hlavně pro zklidnění zvířat po přepravě. Pokud jdou zvířata na porážku ihned nebo naopak jsou příliš dlouho ustájená, může dojít ke vzniku myopatií. Za nejvhodnější se považuje ustájit skot na dobu 2 - 4 hodiny a následně jatečně opracovat (Steinhauser 2000). Při předporážkovém ustájení býků přes noc lze výskytu DFD masa zabránit tím, že jsou býci ustájeni individuálně /Franc 1990/. Je přitom třeba vzít i v úvahu, zda byli býci chováni uvázaní nebo ve volném výběhu. Býky z vazného ustájení je třeba

porazit okamžitě, u volně vykrmovaných býků je nutné alespoň uchovat jejich sociálně stabilizované skupiny během přepravy i při předporážkovém ustájení /Ingr 1989/.

Vliv na spotřebu glykolytického potenciálu může mít u způsob vykrvení a zavěšení kusů. U prasat byly pozorovány značné rozdíly v pH svaloviny mezi končetinou, na níž kus visí, oproti pH ve druhé volně visící končetině /Pipek - nepublikované údaje/.

Průběh posmrtných změn má vliv i na křehkost. U kusů, u nichž dojde k dostatečnému okyselení, se aktivují svalové proteázy katepsiny a dojde ve větší míře k fragmentaci myofibril /Silva 1999, Pearson 1999/.

Účelem této studie bylo ověřit v provozních podmínkách uvedené skutečnosti a zjistit, zda lze očekávat, že výše uvedené jevy budou mít vliv elektrické vlastnosti kusů, které budou podrobeny hodnocení pomocí biolelektrické impedance.

Experimentální část

Současně s hledáním nových metod pro klasifikaci hovězích jatečně upravených těl byly vyhodnoceny i některé jakostní parametry, které mohou výsledky měření ovlivnit (pH, obsah intramuskulárního tuku, křehkost), případně s nimi souviset. Vlastnosti masa může významně ovlivňovat posmrtný pokles hodnoty pH (anaerobní glykolýza na kyselinu mléčnou); zejména nedostatečný pokles v případě DFD masa. Současně byl sledován i vliv těchto souvislosti a zejména hodnoty pH na výskyt tmavého hovězího masa. Na moderní jateční lince byl vyhodnocen vliv pohlaví, předporážkového ustájení a způsobu zavěšení kusů na uvedené vlastnosti. Tyto vlastnosti byly sledovány v ušlechtilých částech svaloviny (kýta, roštěná, plec).

Metody měření

Hodnota pH byla měřena vpichovým pH metrem CMH 3530 (Greisinger electronic GmbH) s kombinovanou skleněnou/kalomelovou elektrodou, a to v následujících okamžicích: na konci jateční linky (pH45) a po vychlazení (pH24, pH48, event. pH72).

Textura byla měřena metodou střihu podle Warnera a Bratzlera na Instronu 5544. Reprezentativní vzorky masa definovaných rozměrů (20 x 15 x 60 mm) byly stříhány rychlostí 80 $mm.min^{-1}$. Senzorem byl měřen a zaznamenáván průběh síly v závislosti na době analýzy až do úplného přestřižení vzorku. Měřená data byla vyhodnocena pomocí programu Series IX. Síla potřebná k přestřižení vzorku masa charakterizuje jeho křehkost.

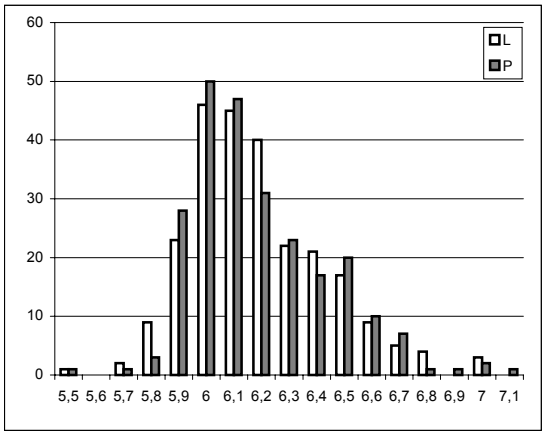
Barva byla vyhodnocena spektrofotometrem Minolta CM-2600d. Z reflekčních spekter byla vypočtena data systému CIE : L*, a*, b*.

Výsledky a diskuse

Nebyly nalezeny významné rozdíly v hodnotě pH_{45} mezi levou a pravou půlkou. Podobně i u následujících hodnot pH (po 24 a 48 h) není patrný žádný vliv zavěšení. Vyplývá z toho důležitý závěr, že měření bioelektrické impedance není ovlivněno způsobem zavěšení, a je proto lhostejné, která půlka bude pomocí BIA měřena. Výsledná hodnota nebude ovlivněna tím, bude-li kus na počátku linky zavěšen za druhou končetinu (viz tab.I resp. obr. 1).

Tabulka I: Průměrné hodnoty pH v MLLT
srovnání levé a pravé půlky (průměr z 250 JUT)

	pH_{45}	pH_{24}
levá	6,63 ± 0,21	6,14 ± 0,24
pravá	6,67 ± 0,22	6,14 ± 0,27



Obr. 1: Rozdělení hodnot pH_{45}

Významné rozdíly v hodnotě pH byly mezi jednotlivými skupinami zvířat. Je vidět, že volné ustájení u býků znamená vyšší hodnotu pH, a to jak na konci porážkové linky (tedy v místě, kde se klasifikuje), tak i po 24 a 48 hodinách p.m. Je zajímavé, že i krávy, jsou–li volně ustájené před porážkou, mají na konci jateční linky vyšší hodnotu pH oproti býkům z vazného ustájení, v průběhu uchování v chladírně se však pH u těchto dvou skupin zvířat vyrovná (viz tab. II).

Tab. II: Změny pH v MLLT post mortem u jednotlivých skupin skotu

pH	**půlka**	býci vázaní	býci volně	krávy vázané	krávy volně	jalovice
45 min	levá	6,59	6,81	6,73	6,72	6,86
	pravá	6,58	6,89	6,78	6,75	6,9
24 h	levá	6,01	6,29	6,05	6,15	6,02
	pravá	6,01	6,32	6,06	6,19	6,08
48 h	levá	5,92	6,10	*	5,92	*
	pravá	5,93	6,08	*	5,99	*

Naproti tomu však u býků, kteří byly před porážkou ustájeni volně, zůstává toto pH již vyšší. Předpokládáme, že u vázaných býků došlo k rychlému pokles pH (již během jatečního opracování), zatímco u krav je tento pokles pomalý, mají však dostatek glykolytického potenciálu, aby stačilo na dostatečný pokles hodnoty pH. U býků z volného ustájení však tento pokles možný není vzhledem k tomu, že lze předpokládat vyčerpání glykolytického

potenciálu již před porážkou. Podobných výsledků bylo dosaženo i v reprodukovaném pokusu (tab. III).

Hlavním předmětem studia však nebylo sledování uvedených změn v průběhu zrání, nýbrž zjištění rozdílů na konci jatečné linky a možný vliv na elektrické vlastnosti. Zde se ukazuje , že mezi zvířaty určité rozdíly jsou a bude třeba v průběhu ověřování metodiky zjistit, jaká je souvislost mezi pH a impedancí.

Tab. III: Změny pH v MLLT post mortem u jednotlivých skupin skotu

pH	půlka JUT	býci vázaní	býci volně	krávy volně
45 m	levá	6,36	6,61	6,67
	pravá	6,37	6,62	6,63
24h	levá	5,97	6,19	5,98
	pravá	5,94	6,22	5,95

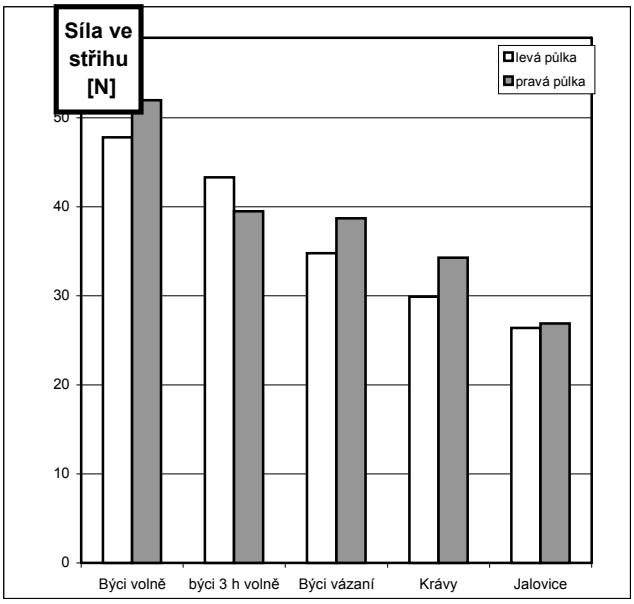
Byly pozorovány rovněž rozdílné hodnoty pH mezi vybranými částmi svaloviny – kýtou (m.semimembranosus), roštěncem (m.longissimus lumborum et thoracis) a plecí (m.triceps brachii). Ani zde nebyly nalezeny výrazné rozdíly mezi oběma půlkami. Nevýznamný náznak rozdílu je u kýty, kde je možné uvažovat o větší spotřebě glykolytického potenciálu v levé kýtě, za níž je kus v okamžiku před vykrvením zavěšen.

Tab. IV: pH v různých částech jatečně upravených těl

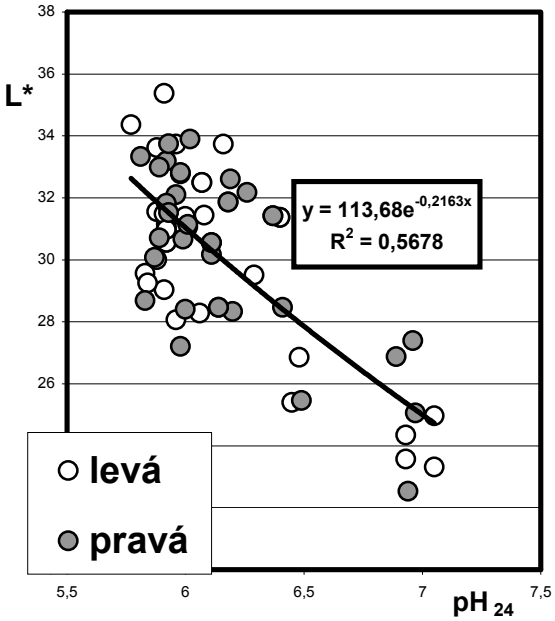
pH	půlka	plec	kýta	roštěná
45 min	levá	6,58	6,44	6,46
	pravá	6,57	6,40	6,48
24 h	levá	5,79	6,08	6,19
	pravá	5,79	6,03	6,18

Současně byly sledovány i některé vlastnosti, které výsledky klasifikace přímo neovlivní, ale s průběhem postmortální glykolýzy souvisí. Byla to jednak barva, jednak křehkost vyjádřená jako síla ve střihu. Je patrné, že u býků volně ustájených před porážkou je vysoké pH a horší je i křehkost (síla ve střihu)vyšší ve srovnání s jinými jedinci (viz obr. 2). Závislost na pH vyjadřují regresní rovnice: síla ve střihu = $13{,}453.pH_{45} - 43{,}451$; $R^2=0{,}0815$, pro pH_{24} síla ve střihu = $11{,}661.pH_{24} - 28{,}983$; $R^2=0{,}509$ nebo pro pH_{80} síla ve střihu = $15{,}66.pH_{80} - 45{,}73$ s koeficientem spolehlivosti $R^2=0{,}314$.

Podobně i barva masa byla hodnotou pH ovlivněna. Na obr. 3 je patrné, že s rostoucí hodnotou pH roste i světlost L* (viz obr. 3). Vyplývá z toho, že jedinci s vysokým pH mají sklon k DFD anomálii. Tím se potvrzuje požadavek předporážkového ustájení býků odděleně. Nebyly patrné rozdíly v barvě mezi levou a pravou půlkou.



Obr. 2 Síla ve střihu u jednotlivých skupin zvířat



Obr. 3: Závislost světlosti na pH

Závěry

V provozních podmínkách byl ověřen vliv předporážkového ustájení a pohlaví skotu na hodnoty pH ve svalovině. Vyšší konečné hodnoty pH se vyskytovaly u býků volně ustájených před porážkou. Barva (světlost) a křehkost jsou ovlivněny konečnou hodnotou pH v mase.

Nebyl zjištěn významný rozdíl pH mezi levou a pravou polovinou jatečně upravených těl, což znamená, že pro měření bioelektrické impedance stačí změřit pouze jednu polovinu jatečně upraveného těla, přičemž obě jsou pro tento účel rovnocenné.

Poznámka

Práce se uskutečnila s podporou GAČR 102/01/1344.

Literatura

Bohuslávek,Z. – Pipek,P. – Malý,J. (2002a): Use of BIA method for the estimation of beef carcass composition – weight of longissimus lumborum muscle, ratio of muscle tissue and fat on the cross-section of sirloin Czech Journal of Animal Science, v tisku

Bohuslavek, Z.(2002b): Estimation of beef carcasses conformation carried out at a high-performance abattoir line, based on an impedance method. Czech Journal of Animal Science, 2002, v tisku

Hamm, R. (1972): Kolloidchemie des Fleisches. 1. ed., Berlin, Hamburg, Paul Parey, 276 s., ISBN 0309-1740.

Honikel, K.O.(2000): Aktuelles aus der internationalen Fleischforschung- Veränderungen im Fleisch nach dem Schlachten - Farbe des Fleisches, Fleischwirtschaft, 80 (9) 116-119, ISSN 0015-363X.

Franc,Č. et al. (1990), XVII. celostátní seminář o jakosti potravin a potravinových surovin živočišného původu. Brno, VŠZ, 1990.

Ingr, I. (1996): Technologické vlastnosti masa a jejich postmortální vývoj, Maso, 7 (5) 6-10, ISSN 1210-4086.

Pearson,A.M. – Dutson,T.R. (1999): Advances in Meat Research – Volume 9. Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products. Aspen Publishers,Inc. Gaithesburg, Maryland. 505 s. ISSN 1-56676-120-4.

Pinkas, A.- Marinová, P.- Tomov, I.- Morin G. (1982): Influence of age at slaughter, rearing technique and pre-slaugter treatment on tome quality traits of lamb meat., Meat Science, 6, 245-255, ISSN 0309-1740.

Pipek, P. (1995): Technologie masa I, 4 ed. Praha VŠCHT, 334 s., ISBN 80-7080

Silva,J.A. (1999): Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing, Meat Science, 52, 453-459, ISSN 0309-1740

SLEDOVÁNÍ INTRAMUSKULÁRNÍHO TUKU U SKOTU

Pipek P., Sarnovský L., Jeleníková J., Malý J.
Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

V souvislosti s hledáním nových metod pro klasifikaci jatečně upravených těl skotu /Bohuslávek 2002/ bylo sledováno složení vybraných částí hovězího masa. Zvláštní pozornost byla věnována intramuskulárního tuku, který ovlivňuje kvalitu masa, mimo jiné jeho křehkost. Maso bez tuku je suché, tuhé a obecně méně oblíbené u konzumentů. Optimální obsah intramuskulárního tuku (tzv. mramorování) je v různých oblastech světa rozdílný. Zatímco v naší oblasti obsah intramuskulárního tuku činí v průměru 2 - 3 %, bývá tento obsah v Japonsku 25 % i více. Proto pro všechny, kteří přicházejí do kontaktu s masem (zejména hovězím), tj. pro chovatele, zpracovatele, obchodníky i konzumenty, je podíl intramuskulárního tuku, jeho sledování a případné ovlivnění tohoto podílu významné.

Z morfologického hlediska je intramuskulární tuk charakterizován jako depotní tuk, který je ve větším množství viditelný jako mramorování a ve formě shluků tukových buněk se nalézá především v perimysiu a endomysiu. Představuje energetickou zásobu, a má proto jinou funkci než fosfolipidy, které jsou lokalizovány jako strukturální elementy v buněčných membránách /Arneth 1998/.

Obsah intramuskulárního tuku se obvykle stanoví po pečlivé preparaci svalu s následnou extrakcí (Soxhlet). Byly zkoušeny různé způsoby extrakce; všechny jsou uzanční a je nutné kompromisně posuzovat význam pojmu „intramuskulární tuk“. Metodou Weibulla-Stoldta byl dosažen poněkud vyšší výtěžek triacylglycerolů než přímou extrakcí podle Soxhleta, spolu s triacylglyceroly však byly zároveň stanoveny nežádoucí mastné kyseliny fosfolipidů. Extrakcí vzorků směsí chloroform/methanol lze získat veškeré triacylglyceroly, získané výsledky jsou však ovlivněny přítomností současně extrahovaných fosfolipidů a rušivých nelipidických složek. Za optimální metodu pro stanovení intramuskulárního tuku v mase lze považovat extrakci podle Soxhleta s použitím n-hexanu jako nepolárního rozpouštědla. Tato Soxhletova extrakce ve standardizované formě podle ISO 1444 je doporučena jako referenční metoda pro analýzu intramuskulárního tuku /Arneth 1998/.
Nabízí se ale i využití moderních metod, např. analýzy obrazu. Prozatím byla analýza obrazu v této souvislosti využita hlavně pro klasifikaci skotu vzhledem k tomu, že žilky tukové tkáně (mramorování) jsou zejména u hovězího masa velmi kontrastní oproti zbývající svalovině /Brandscheid 1999/. Vzorky mletého masa byly po nasnímání hodnoceny z hlediska jasu, sytosti i odstínu a byl stanovován obsah tuku. Ukazuje se, že VIA lze využít pro sledování mletého masa až do obsahu tuku 32 % /Gwartney 1996/. Analýza obrazu byla použita i pro hodnocení jatečně upravených těl prasat a jejich částí. Poměr ploch masa a tuku na řezu roštěncem vysoce koreloval s výsledky získanými detailní disekcí /Brandscheid 1996/.
V Japonsku vyhodnocovali pomocí obrazové analýzy podíl intramuskulárního tuku a zjistili korelace s hodnocením stupně mramorování /Kuchida 1992/.

Lze předpokládat, že bílé plochy odpovídají tukové tkáni, a tudíž obsahu tuku. Bylo navrženo i histologické barvení, aby pojivová tkáň nezkreslovala výsledky /Albrecht 1996/.

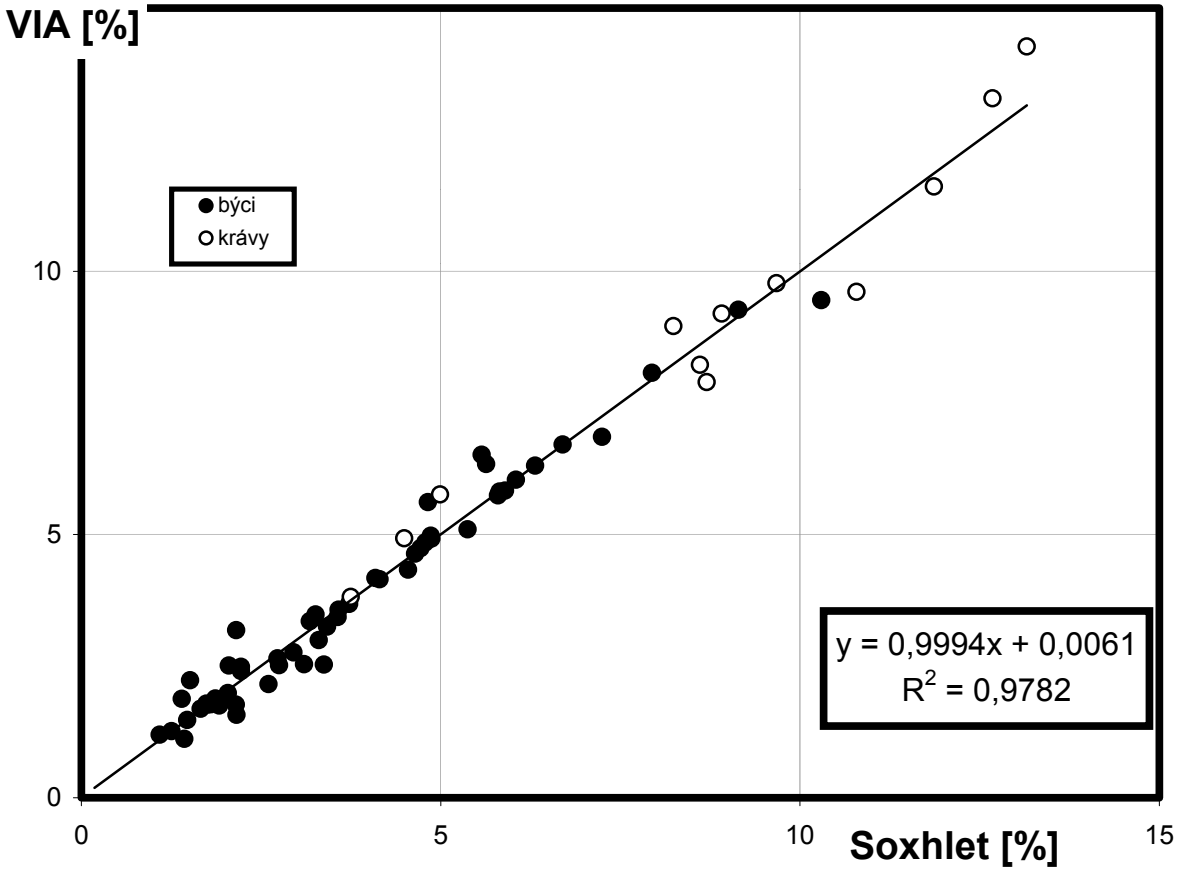
Experimentální část

Byly zjišťovány korelace mezi výsledky klasické extrakční metody a vyhodnocením podílu ploch odpovídajících svalové resp. tukové tkáně pomocí obrazové analýzy. V příčném řezu roštěncem byla zjišťována velikost i tvar svalu musculus longissimus thoracis et lumborum (MLLT) a podíl tuku v tomto svalu i v celém roštěnci. Současně byl určován i podíl MLLT v roštěnci.

Stanovení tuku extrakčně – vzorek masa předsušeného s pískem při 103±2°C byl extrahován petroletherem po dobu 5 h v Soxhletově extraktoru (ČSN ISO 1444).
Způsoby snímání obrazu - bylo zkoušeno několik způsobů snímání obrazu – pomocí digitálního fotoaparátu Nikon coolpix 800 a pomocí digitální videokamery Panasonic NV-DS 38EG. V případě videokamery byl zkoušen i režim „nočního vidění“, tj. snímání odraženého infračerveného záření, které kamera vysílá. V obou případech byl objekt nasvětlen viditelným světlem, v omezeném počtu případů i ultrafialovým zářením (Zářivka Tesla RTU 125 W) nebo kombinací obou.
Analýza obrazu byla použita pro zjištění bílých ploch na řezu; příslušným programovým vybavením byla LUCIA 3.52b. Postup vyhodnocení spočíval v tom, že nejprve bylo z obrazu pomocí obrazové aritmetiky odstraněno pozadí a poté byl vlastní obraz řezu roštěncem rozdělen na plochu odpovídající svalu MLLT a na zbývající plochu řezu roštěncem. V části svalu MLLT byly naprahovány body odpovídající „bílé“ tkáni a byl změřen podíl jejich plochy z celkové plochy svalu. O této ploše se předpokládá, že je tvořena převážně tukem, a tak byla dána do korelace s obsahem tuku stanoveným v tomto svalu extrakčně. Podobně se postupovalo i ve zbývající části roštěnce.

Výsledky a diskuse

Ukázalo se, že existuje dobrá shoda mezi obsahem tuku stanoveným pomocí extrakční (Soxhletovy) metody a hodnotami získanými analýzou obrazu. Limitujícím se zde ukazuje nasnímání obrazu masa a s tím související možnost odlišení tukové tkáně od jiných tkání (pojivová, kosti) i odstranění rušivých vlivů (lesk).



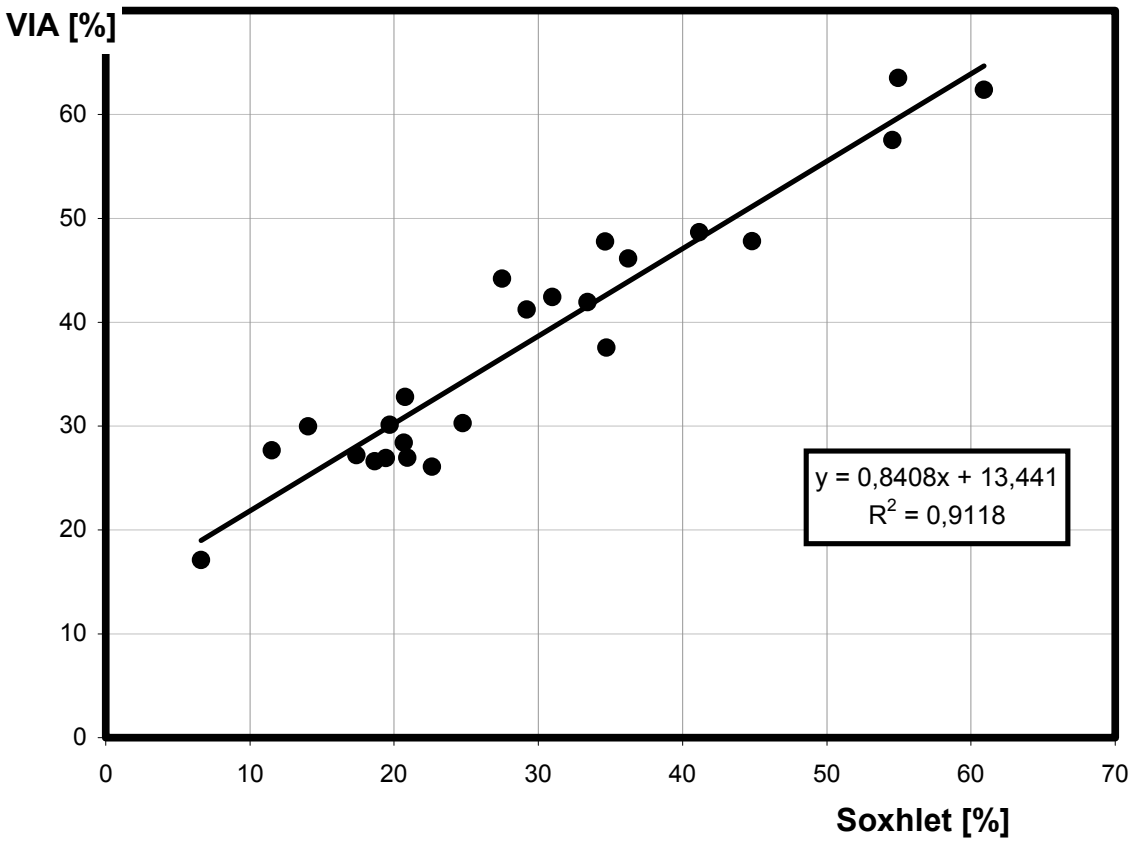
Obr. 1: Korelace mezi obsahem tuku stanoveným extrakčně (Soxhlet) a pomocí VIA ve svalu MLLT

Velmi dobré shody ve stanovení obsahu intramuskulárního tuku bylo dosaženo u svalu *musculus longissimus lumborum et thoracis* - (viz obr. 1).

Naproti tomu shoda mezi výsledky extrakční metody a výsledky získanými obrazovou analýzou při vyhodnocování celých plátků roštěnce (tedy včetně okolní tukové tkáně a dalších svalů) je ovlivněna skutečností, že bílé plochy na digitálním obraze zde vytváří i pojivová tkáň, která se však liší obsahem tuku (viz obr. 2). Obsah tuku určený pomocí analýzy obrazu pak má poněkud vyšší hodnoty než při stanovení pomocí extrakční metody. Vysvětlení spočívá v tom, že bílými objekty na snímku jsou i kost a pojivová tkáň, které pak počítač vyhodnotí jako „tuk“. Je proto třeba tyto předměty odstranit z obrazu. V případě kosti, která má svůj pravidelný tvar, lze toto zajistit využitím binárního editoru a obrazové aritmetiky velmi snadno, větší problém činí pojivová tkáň (vazivové částice). Zde uvažujeme o vhodném způsobu nasvícení (UV).

Problémem je rovněž skutečnost, že v intramuskulárním tuku prosvítají odstíny z okolní svaloviny, takže tyto žilky někdy nejdou snadno naprahovat. Zatímco souvislou mezisvalovou tukovou tkáň lze celkem jasně oddělit, při naprahování tenkých žilek ve svalovině je tento postup horší.

Pro zlepšení kontrastu mezi tukovou tkání a okolím byly zkoušeny různé kombinace nasvětlení i snímání objektu. Prozatím nejsou k dispozici dostatečně průkazné výsledky, jde spíše o první kvalitativní výsledky či zkušenosti.



Obr. 2: Korelace mezi obsahem tuku stanoveným extrakčně (Soxhlet) a pomocí VIA ve zbývající části roštěnce

Oproti očekávání se neosvědčilo snímání pomocí **infračerveného záření** (digitální videokamera – režim „noční vidění“), kdy snímky byly méně kontrastní oproti snímkům při

normálním „denním“ režimu. Při tomto způsobu bylo velmi obtížné naprahování, protože obraz vychází málo kontrastní, navíc je nerovnoměrně nasvícený, protože kamera užívá i vlastního bodového IR zdroje. Zlepšení lze proto očekávat od zakrytí zdroje IR světla z kamery, či použití vhodného filtru.

Naopak jako velmi vhodné se ukazuje přisvícení objektu pomocí **ultrafialového světla** – kombinací viditelného a ultrafialového světla bylo dosaženo velkého kontrastu mezi tukovou tkání a svalovinou a bylo možné proto objekty nepatřící k intramuskulárnímu tuku dobře naprahovat a dosáhnout tak dobré shody s výsledky extrakční metody. Vzhledem k tomu, že pro toto sledování byl použit jen omezený počet vzorků, budeme ve sledování dále pokračovat a zpřesňovat ho. Uvažujme i o použití jiných barev světla, jeho polarizaci či přímo o histologickém barvení (v tom případě se ale ztrácí výhoda rychlé nedestruktivní provozní metody).

Závěry

Z naměřených závislostí vyplývá, že obrazová analýza je vhodná metoda pro rychlé vyhodnocování intramuskulárního tuku. Při porovnání této metody s klasickou extrakční metodou byla zjištěna dobrá shoda mezi hodnotami obsahu tuku dosaženými oběma metodami, a to zejména u svalu MLLT. Nepřesnosti při stanovení tuku pomocí obrazové analýzy jsou důsledkem rušivého vlivu pojivové tkáně a kostí. Předpokládá se zlepšení úpravou nasvícení, využitím ultrafialového záření a filtrování některých složek světla při snímkování.

Poznámka Práce se uskutečnila s podporou GAČR 102/01/1344.

Literatura:

Arneth,W.(1998): Über die Bestimmung des intramuskulären Fettes. Fleischwirtschaft, *78 (3)* 218-220, ISSN 0015-363X.

Albrecht,E. – Wegner,J. – Ender,K.(1996): A new technique for objective evaluation of marbling in beef. Fleischwirtschaft, 76 (11) 1145-1147. ISSN 0015-363X.

Bohuslávek,Z. – Pipek,P. – Malý,J. (2002a): Use of BIA method for the estimation of beef carcass composition – weight of longissimus lumborum muscle, ratio of muscle tissue and fat on the cross-section of sirloin Czech Journal of Animal Science, v tisku

Bohuslavek,Z.(2002b): Estimation of beef carcasses conformation carried out at a high-performance abattoir line, based on an impedance method. Czech Journal of Animal Science, 2002, v tisku

Branscheid,W. - Dobrowolski,A. - Spindler,M. - Augustini,Ch. (1999): Application of video image analysis in grading of cattle. Fleischwirtschaft International, 4, 1999, s. 12-15. ISSN 0179-2415.

Branscheid,W – Dobrowolski,A, - Hoereth-R (1996): Video image analysis. A method for the on-line recording of the cut value of pig carcasses. Fleischwirtschaft 76 (7) 721-724. ISSN 0015-363X.

ISO 1444

Gwartney,BL. – Gao,X. – Tan,J. – Gerrard,D.E. (1996): Determining fat content in ground beef via color image processing. Journal of Muscle Foods; 7 (4) 441-451.

Kuchida,K. – Yamaki,K. - Yamagishi,T - Mizuma,Y. (1992): Evaluation of meat quality in Japanese beef cattle by computer image analysis. Animal Science and Technology; 63 (2) 121-127.

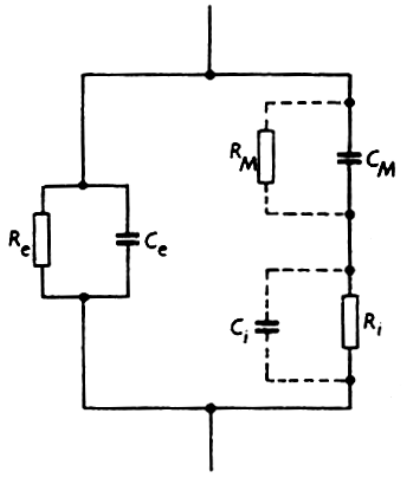
BIOELEKTRICKÁ IMPEDANČNÍ ANALÝZA A JEJÍ POUŽITÍ K URČENÍ KVALITY POTRAVINÁŘSKÝCH SUROVIN

Bohuslávek Z.
Česká zemědělská universita Praha,Technická fakulta, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6

Bioelektrická impedanční analýza (BIA) je metoda, která umožňuje nepřímo stanovit složení biologických tkání. Tato nedestruktivní metoda je již využívána k odhadu složení těl živých i poražených hospodářských zvířat. Výzkumné i poloprovozní aplikace uvádí např. Jenkins et al. (1995), Cosgrove et. al.(1988); Swantek (1992) a Marchello (1994). Jenkins et al. měřil na 526 živých kusech skotu pomocí 4-elektrodové metody impedanci (rezistanci), délku a hmotnost těla zvířat. Z těchto veličin zjistil regresní závislost pro výpočet podílu svalové s velmi vysokým koeficientem spolehlivosti r^2 = 0,94. Hegarty et al. (1998) provedl měření pomocí bioelektrické impedanční analýzy (BIA) na 103 kusech jatečně upravených tělech ovcí a na základě impedance měřené při frekvenci 50 kHz, hmotnosti a délky jatečně upraveného těla (JUT) v teplém stavu odvodil regresní rovnici pro výpočet celkové vody v těle s koeficientem r^2 = 0,9. Obsáhle jsou popsány metody k stanovení složení lidského těla v práci Lukaski (1987). Jsou zde uvedeny tradiční i nové metody včetně BIA využívané v humánní medicídě k odhadu podílu svalových tkání (FFM-kg), celkové a extraceluární vody v těle atd.. Mezi základní práce patří publikace Lukaski(1985), kde je fundovaně popsána metoda tetrapolarní impedanční analýzy a její použití k odhadu podílu svalových tkání lidského těla. Použití BIA k odhadu třídy zmasilosti podle EU norem uvádí Bohuslavek (2000), a to použití klasického impedančního analyzátoru s individuelním vpichováním jehlových elektrod do přední a zadní končetiny JUT. V druhé části článku je uveden popis těchto experimentů.

a) Elektrický model biologických tkání

Buňky, které jsou pokládány za základní stavební prvky tkání, jsou složitým komplexem organických a minerálních látek. Povrch buňky je tvořen membránou, která se elektricky projevuje kapacitou v rozmezí 0,1 až 3 μF/cm^2 (10^{-3} až 3.10^{-2} F/m) a povrchovým odporem do 10 kΩ.cm^2 (do 1 Ω.m^2). Uvnitř buňky je nitrobuněčná (intracelulární) tekutina, vně potom mezibuněčná (extracelulární) tekutina. Obě mají měrný odpor v rozmezí 1 až 30 Ω.m a relativní permitivitu $\varepsilon_r \approx 80$. V nitrobuněčném a mezibuněčném prostoru můžeme skutečné prostředí modelově nahradit paralelními RC obvody odpovídajícími měrné vodivosti a permitivitě těchto prostředí; uvedeném na obr.1. Zde indexy „e“ označují extracelulární tekutinu, „M“ membránu a „i“ intracelulární tekutinu. V tomto schématu můžeme ještě zanedbat vodivost membrány a zdánlivý odpor kapacity nitrobuněčné tekutiny ve srovnání s paralelně zařazenými prvky. Potom můžeme prvky R_M a C_i vynechat. Každé z prostředí tvořících buněčnou tkáň tak můžeme modelovat jako síť paralelních RC obvodů, který tvoří globální obvod opět v paralelní formě. Nejjednodušším bio-modelem je paralelně zapojený RC obvod. Poznatek je důležitý pro výpočet (analýzu) složek bioelektrické impedance.



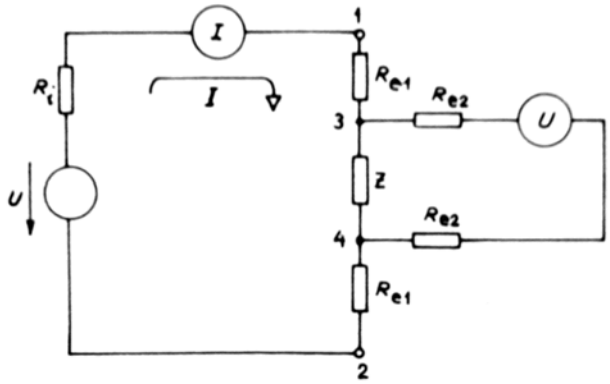
Obr.1 Náhradní schéma buňky

b) Bioelektrická impedance a její složky

Všechny substance kladou odpor vůči toku elektrického proudu, přičemž rezistance (R) odpovídá reálnému odporu substance vůči stejnosměrnému proudu respektive při napájení střídavým proudem jde o odpor složce proudu s nulovým fázovým posuvem vůči napájecímu napětí. Reaktance X_C je zdánlivý odpor kondenzátoru úměrný jeho kapacitě C a úhlové frekvenci ω procházejícího střídavého proudu, tedy $X_C = \omega C$. Proud kapacitou předchází napájecímu napětí o čtvrt periody (fázový úhel = 90°), a proto součet obou složek je vektorovým součtem a výsledným vektorem je impedance. Fázový úhel φ, kterým impedance předbíhá napájecí napětí, vyjadřuje poměr obou složek – reaktance a rezistance a může se pohybovat od 0 do 90°. Teoreticky by tkáň s $\varphi = 90^o$ byla tvořena jen reaktancí tzn. byla složena jen z buněčných membrán bez vody. Tkáň s úhlem $\varphi = 45^o$ má reaktanci a resistanci ve stejném poměru, a to je případ např. čerstvého ovoce a zeleniny. Podrobíme-li např. tkáň brambor nebo jiné zeleniny delšímu vaření nebo zmrazení pak její rezistance klesne, reaktance bude nulová, a tím bude i úhel $\varphi = 0$. Z výkladu je zřejmé, že složky impedance i fázový úhel mohou sloužit k odhadu složení a kvality biologických tkání.

c) Výběr vhodné metody měření impedance a elektrod

Nejčastěji je používán zdroj konstantního střídavého proudu (I) zapojený ve čtyř-elektrodovém obvodu. Tento způsob měření znázorňuje obr. 2. Dvěma elektrodami č. 1 a 2 přivádíme do tkáně proud I, celkem nezávislý jak na impedanci tkáně Z, tak i na přechodových odporech Re1. Dalšími dvěmi elektrodami č. 3 a 4 odvádíme napětí z měřeného úseku biologické tkáně k vektorovému voltmetru. Vlivem vysoké vstupní impedance voltmetru teče jeho obvodem zanedbatelný proud, a proto se neuplatní přechodové odpory R_{e2} mezi napěťovými elektrodami a tkání. V případě dvou-elektrodového měření tedy měříme v sérii s měřenou impedancí poměrně špatně definovatelné přechodové odpory, jejichž velikost silně závisí na kvalitě připojení elektrod ke tkáni. Tento nedostatek je při čtyř-elektrodovém měření prakticky odstraněn. Použitím zdroje střídavého proudu je dále odstraněna nežádoucí polarizace elektrod. Výběr použitelných elektrod je z hlediska technologických požadavků zúžen na aplikace jehlových vpichových a plošných povrchových kovových elektrod.



Obr.2 Čtyř-elektrodové měření

d) Použití klasické metody BIA k odhadu třídy zmasilosti JUT skotu podle norem EU

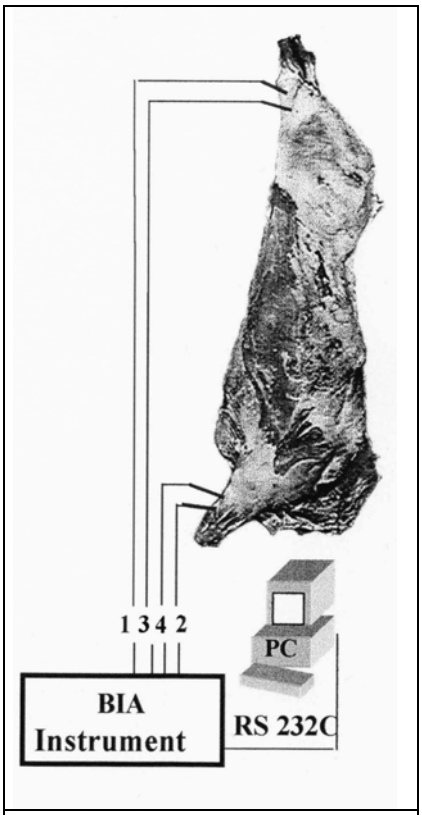
Možnost použití bio-impedanční analýzy k odhadu jakosti jatečně upravených půlek skotu byla ověřena na experimentálním měření na 292 kusech skotu. K experimentům byl použit impedanční analyzátor firmy FEMTO původně určený pro použití v humánní medicíně k stanovení FFM (fat free mas) a TBW(total body water). K měření byly použity jehlové elektrody v 4-elektrodovém uspořádání a střídavý měřicí proud o frekvenci 50 kHz a intenzitě 350 uA. Obsluha analyzátoru byla automatizována a řízena PC. Počítač prováděl 6x měření u každého kusu, data on-line statisticky vyhodnocoval pouze průměrnou hodnotu a sm. odchylku ukládal do tabulek a na disk. Referenční hodnoty jakosti – třídy zmasilosti a protučnělosti - byly subjektivně stanovené školenými inspektory podle norem EU, které

akceptuje i naše současná ČSN 466120(21). Třídění bylo z důvodu vyšší přesnosti prováděno v 15-ti bodové stupnici tzn., že např. v rozsahu 5-ti obchodních tříd pro zmasilost (E,U,R,O,P) byly odhadovány pro každou třídu tři podtřídy (např. +U, U, -U). Bylo měřeno 345 kusů JUT, ale dále statisticky vyhodnocováno jen 293 kusů s odchylkami měřené impedance menšími než 2 ohms (1%). Soubor se základními měřenými hodnotami popisuje tabulka Tab. 1.

Tab.1

	186 ml. býků		**97 krav**		**5 býků**		**5 jalovic**	
Kategorie	*Mean*	*S. dev.*	*Mean*	*S. dev*	*Mean*	*S. dev*	*Mean*	*S. dev*
*Zmasilost **	*9,5*	*1,9*	*13,2*	*1,47*	*9,6*	*1,1*	*11,7*	*0,95*
*Protučnělost **	*6,6*	*1,5*	*6,9*	*2,1*	*7,2*	*0,8*	*8,4*	*1,5*
Hmotnost [kg]	*356,6*	*43,14*	*268,7*	*47,6*	*403,7*	*16*	*259,8*	*31,7*
Impedance [ohm]	*161,4*	*17,5*	*219*	*26,7*	*163*	*13,8*	*215,3*	*8,7*
Rezistance [ohm]	*156,15*	*17,23*	*212,8*	*26,5*	*157*	*14,1*	*209*	*8,1*

** Třídící systém s 15-ti podtřídami pro zmasilost i protučnělost*



Obr. 3 Umístění elektrod

Jehlové elektrody, číslované shodně jako v obr.2, byly umístěny na malých držáčcích podvojicích (1,3) (2,4) a byly do JUT vpichovány ručně dvěma osobami na místa znázorněná na obr. 3. Tento způsob je ovšem těžko použitelný v provozní praxi, a proto jsou hledána jiná technická řešení umožňující obsluhu jednou osobou, Bohuslávek (2002), Bohuslávek et al. (2002).

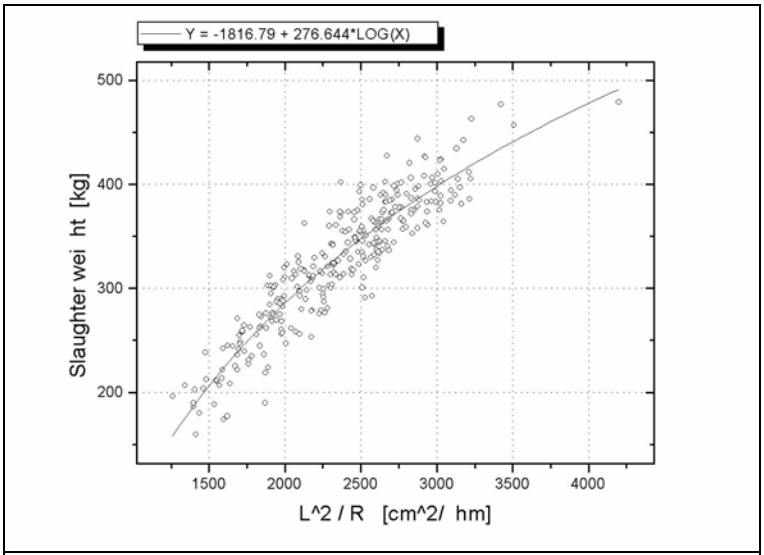
Výsledky a diskuze.

Měřené hodnoty rezistance **R** (ohm), reaktance **Xc** (ohm), hmotnosti teplého JUT **Ws** (kg), délky JUT **L** (cm) byly dále využity k výpočtu odvozených veličin: were supplemented by the calculated values: impedance … **Z** (ohm), podílu délky a rezistance … **L/R**, specifické objemové hmotnosti JUT … **Wd** (hmotnost / objem - kg/m^3) a tzv. elektrického objemu **L^2/R**, který uvádí např. Lukaski (1985), Swantek (1991) a další autoři. Korelace mezi těmito veličinami a jemně odstupňovanými třídami zmasilosti a protučnělosti podle EU a shodně ČSN 466120(21) uvádí tabulka Tab.2

Byly zjištěny významné korelace mezi zmasilostí a veličinami: rezistancí R (r = 0,86) i impedancí Z (r = 0,86). Protučnělost nevykázala žádné významné korelace na měřených i vypočítaných veličinách. Naopak velmi vysoká korelace je mezi elektrickým objemem a hmotností JUT. Průběh závislosti zachycuje regresní funkce na obr.4.

Tab.2 Korelace mezi impedančními veličinami a technologickými vlastnostmi JUT, n = 176

	Protučnělost	**Zmasilost**	**Wd** (JUT density)	**Ws** (hmotnost JUT)
L^2/R	0,164	-0,82	0,75	**0,9198**
Rezistance R	0,024	**0,864**	**-0,866**	-0,823
Reaktance Xc	-0,091	0,652	-0,678	-0,615
Impedance Z	0,028	**0,860**	**-0,864**	-0,819
R/L	-0,027	0,851	-0,822	**-0,885**
Ws (hmotnost JUT)	0,228	**-0,848**	0,720	1,00
Délka (JUT) **L**	0,241	-0,128	-0,022	0,535



Obr 4. Regresní závislost hmotnosti **Ws** (slaughter weitght) na elektrickém objemu $\mathbf{L^2/R}$. (r=0,92; r^2=0,85)

Na základě získaných nejlepších korelací byla provedena vícenásobná regresní analýza a vypočtena regresní rovnice pro odhad zmasilosti, odvozená z rezistance, délky a hmotnosti teplého JUT. Kvalitu regresního modelu charakterizuje docílený koeficient determinace r^2 = 0,88.

Literatura.

Bohuslavek Z. (2000a): Estimation of EUROP-Conformation and Fatness of Beef Carcasses by Bioelectrical Impedance Analysis., CIGR Electronic journal, www.agen.tamu.edu/cigr, Vol. II, (3), p.1-10.

Bohuslavek Z.(2002b): Estimation of beef carcasses conformation carried out at a high-performance abattoir line, based on an impedance method. Czech Journal of Animal Science, 2002, recently printing

Bohuslávek,Z. – Pipek,P. – Malý,J. (2002a): Use of BIA method for the estimation of beef carcass composition – weight of longissimus lumborum muscle, ratio of muscle tissue and fat on the cross-section of sirloin Czech Journal of Animal Science, v tisku

Cosgrove, J. R. J., King, W. B., and Brodie, D. A., (1988): A note on the use of impedance measurements for the prediction of carcass composition in lambs. Animal Production 47, p.311-15.

Hegarty R.S., McPhee m.J., Oddy V.H (1998): Prediction of the chemical composition of lamb carcasses from multi-frequency data., Britisch journal of Nutrition, 79, p. 169-176

Jenkins T.G., Leymaster K.A., McNeil M.D (1995): Development and evaluation of a regression equation of prediction for fat free soft tissue in heterogenous populations of cattle. Journal of Animal Science 73, p.3627 -3632.

Lukaski, C.H., Johnson E.P., Bolonchuk W.W. (1985): Assessment of fat free using bioelectrical impedance measurements of the human body. The American Journal of Clinical Nutrition 41, 1985, p. 810-817.

Marchello M.J., Slanger W.D. (1994): Bioelectrical impedance can predict skeletal muscle and fat-free skeletal muscle of beef cows and their carcasses. Journal of Animal Science 72, 1994, p. 3118-23.

Swantek P.M., Creschaw J.D., Marchello M.J., Lukaski H.C.(1992): Bioelectrical impedance a non-destructive method to determine fat-free mass of live market swine and pork carcasses. Journal of Animal Science 70, 1992, p.169-77.

Adresa autora: *Doc. Ing. Zdeněk B o h u s l á v e k, CSc.*
Česká zemědělská univerzita, Technická fakulta, Kamýcká 129, 16521 Praha 6 –Suchdol, Česká republika, tel.:02-2438 3300, fax.: 02-20921361, e-mail: bohuslav.zd@seznam.cz

Poznámka

Práce se uskutečnila s podporou GAČR 102/01/1344.

POUŽITÍ BIA METODY K ODHADU SLOŽENÍ JATEČNĚ UPRAVENÝCH TĚL SKOTU

Bohuslávek Z.[1], Pipek P.[2], Malý J.[2]
1-Česká zemědělská universita Praha, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6
2-Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 166 28 Praha 6

Hodnocení kvality jatečně upravených těl (JUT) je významné pro jejich objektivní klasifikaci a tedy stanovení korektních vztahů mezi chovatelem a zpracovatelem jatečných zvířat. Současně je posouzení významné i pro další určení masa, tj. pro výsek nebo jako surovina pro masnou výrobu. V případě výsekového masa jsou významné podíly svaloviny a tukové tkáně důležitými kriterii pro jeho kulinární úpravu. Naopak obsah tuku je nejvýznamnější u výrobního masa, proto klasifikace JUT zahrnuje i z těchto důvodů odhad tuku.

Pro bio-elektrickou impedanční analýzu složení těl živých hospodářských zvířat a jejich jatečně upravených těl se nejčastěji používají jehlové elektrody v různých modifikacích. Pojetí se liší podle použití u živých zvířat nebo jejich jatečně upravených těl a podle druhu testovaných živočichů. Elektrody jsou používané v tetrapolárním uspořádání, kdy napájecí vodiče jsou odděleny od měrných elektrod. Je to přesnější princip měření, který pomáhá odstranit polarizační efekt a přechodový odpor elektrod, čili usnadňuje měření v lineární oblasti (Lukaski, 1985; Swantek, 1991**;** Bohuslávek, 2000a,b). Jehlové elektrody poskytují uspokojivé výsledky během laboratorních a experimentálních měření, např. Swantek (1991) tímto způsobem zkoušel možnost odhadu libové svaloviny u živých prasat i JUT prasat. Nejlepší regresní model pro odhad libové svaloviny dosáhl r^2=0,84. Měření jehlovými elektrodami (Jenkins et al.(1995), ukázalo možnost použití BIA pro odhad libové svaloviny v heterogenní populaci skotu. Na základě měřených elektrických vlastností, délky těla a hmotnosti byly odvozeny regresní rovnice pro odhad libové svaloviny (kg) s dobrou spolehlivostí (r^2 =0,942). Při testování vhodnosti použití BIA metody pro posouzení zmasilosti JUT skotu na výkonné porážkové lince ,(Bohuslávek, 2002b), se vyskytly některé nedokonalosti jehlových elektrod: obtížnost přesného umístění elektrod, nežádoucí kontakt se kostmi, poškození elektrod). Především z těchto důvodů byly tak docíleny horší výsledky v odhadu zmasilosti než při individuelním vpichováním dvojic elektrod, Bohuslávek(2000b).

Presentovaná práce byla provedena za účelem určení vlastností nových plošných elektrod a impedančního analyzátoru. Konkrétním cílem bylo stanovit elektrické vlastnosti jatečních těl skotu během standardního výkonu jatek. S použitím elektrických hodnot získaných pomocí BIA byla odhadnuta hmotnost svalu musculus longissimus lumborum et thoracis a další veličiny charakterizující nepřímo podíl tuku a masa v JUT. Jednalo se konkrétně o absolutní a podíl ploch svalové nebo tukové tkáně na příčných řezech 8. a 9. žebra JUT.

Materiál a metody experimentu

a) *Soubor zkoumaných zvířat.*

Během jedné směny bylo měřeno 54 kusů jatečně upravených těl skotů (býků, krav, jalovic) na jatkách v Kostelci u Jihlavy. Měření byly provedena pouze na levé půlce JUT. Technologické a elektrické vlastnosti JUT zkoumaných zvířat jsou uvedeny v Tab1.

b) *Popis měřící metody.*

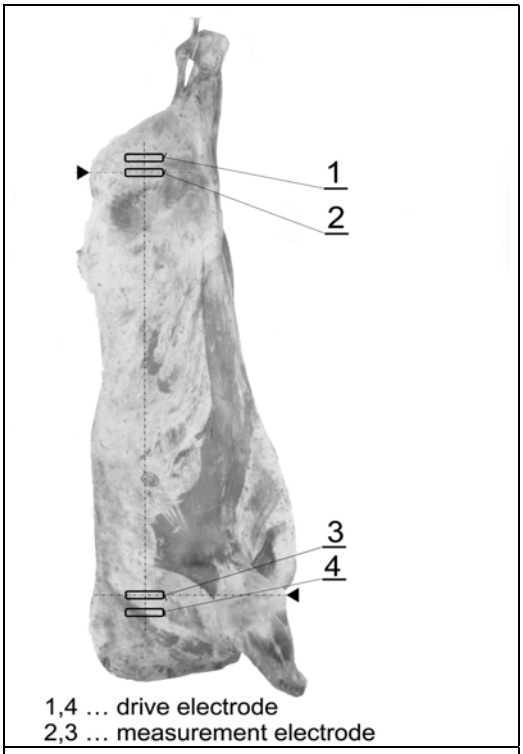
K měření bioelektrické impedance byla využita čtyř-elektrodová metoda s pružnými plošnými elektrodami opatřenými na povrchu měděnou folií o ploše 30 cm^2 (150x20 mm). Nově impedanční analyzátor, vyvinutý na pracovišti autora, umožnil měření impedance a fázového úhlu na třech frekvencích(1 ; 10 a 100kHz). Mechanické provedení držáku elektrod,

Tab 1. Vlastnosti skupin hodnocených 54 zvířat

Kategorie	40 mladí býci		10 krávy		4 jalovice	
	průměr	s.odch..	průměr	s.odch..	průměr	s.odch..
CW [kg]	395,00	44,12	264,40	31,85	296,20	18,75
Délka JUT [cm]	333,50	9,08	325,50	7,29	313,00	7,26
1Rp [ohm]	112,02	9,83	166,62	8,67	151,12	12,47
100Xcp [ohm]	283,17	47,70	513,34	109,15	417,98	40,76
100Rp [ohm]	70,73	6,82	108,85	9,60	98,90	8,15
MA [cm^2]	169,71	29,15	101,83	20,88	140,14	17,41

CW ... hmotnost JUT [kg] MA ... plocha masa 1Rp ... resistance při frekvenci 1 kHz
100Rp ... resistance při frekvenci 100 kHz 100Xcp ... reaktance při frekvenci 100 kHz

včetně způsobu měření vzdálenosti elektrod, bylo shodné jako při experimentech, které popsal Bohuslavek(2002b). Místa pro umístění elektrod byla volena tak, aby byla snadno anatomicky definovatelná a umožňovala rychlou obsluhu a dobrý kontakt elektrod. Elektrody byly umisťovány z vnější strany levé poloviny JUT a polohu ukazuje schéma na obr.1.



Obr. 1 Schéma umístění elektrod

Měřicí přístroj byl napájen z NiMh akumulátorů a komunikoval s řídicím počítačem přes rozhranní Irda, čímž bylo jednoduše zajištěno galvanické oddělení od rozvodné sítě zajišťující vyšší odolnost rušení. Program řídicího počítače využíval k měření pouze dvě frekvence (1 a 10 kHz). Vysílaná data z analyzátoru (impedance, úhel) a zadávaná z klávesnice PC (číslo kusu, vzdálenost elektrod, délka kusu) program automaticky archivoval do tabulek ASCII a formátu Excel.

c) <u>Referenční hodnoty – získané při technologickém bourání JUT.</u>

Po zchlazení byly JUT děleny mezi 8. a 9. žebrem a potom mohly být digitální kamerou Olympus 2020 Z snímány plochy řezu horní čtvrtě JUT.

Dorsální část, tj. nízký roštěnec (včetně páteře) byl oddělen od JUT a zvážen (SV). Následně byly tyto části vykostěny a znovu zváženy (S). Nakonec byly odstraněny všechny okolní tkáně z nejdelšího zádového svalu (musculus *longissimus lumborum et thoracis*) a tento sval také zvážen (MLL). Levá a pravá část (roštěnce) byly měřeny paralelně, aby se ověřila asymetrie obou *stran – odpovídající indexy jsou L - levá, R - pravá.*

d) <u>Výstupní veličiny analyzátoru.</u>

Měřená impedance a fázový úhel byly pro statistickou analýzu přepočítány na reálnou a imaginární složku impedance – resistanci a reaktanci. Přepočítané hodnoty odpovídají seriově řazenému RC obvodu (Rs,Xcs) a paralelnímu obvodu (Rp, Xcp).

e) *Program LUCIA 3.52* byl použit pro obrazovou analýzu příčného řezu mezi 8. a 9. Části odpovídající tuku a svalovině byly naprahovány a převedeny do binárního obrazu. Po úpravě binárního obrazu byly změřeny celková plocha příčného řezu, plocha svaloviny a plocha tukové tkáně. Původní plochy vyjádřené v pixelech byly převedeny na plochy v cm^2 a následně vypočteny podíly tukové tkáně a svaloviny.

e) *Zpracování výsledků, statistické vyhodnocení.*

Data impedanční analýzy byla doplněna o vypočítané hodnoty z původních hodnot, např. elektrický objem D^2/R_p, L^2/R_p podle (Lukaski 1985, Swantek et. al. 1992, Hegarty et. al. 1998) s očekávanou dobrou korelací na hmotnost JUT. Dále o poměrné veličiny vypočítané z reaktancí 1Xcp/1Xcp, 100Xcs/1Xcs od kterých se očekává dobrá korelace na poměrný podíl tuku v JUT. Na datech byla provedena korelační a následně regresní analýza.

Výsledky a diskuze

Vyšetření korelací veličin BIA bylo provedeno na dvou skupinách referenčních hodnot. První skupinu tvořily hmotnosti částí získané disekcí levé poloviny JUT: LNR, LR, LNSZ. Výsledky analýzy jsou uvedeny v Tab. 2 a představují nejvyšší docílené korelace vybraných veličin. Podle předpokladu vycházejícího z dřívějších měření (Lukaski et al.1987, Hegarty et al.1998, Bohuslavek 2000a), byla docílena získána nejvyšší korelace hmotnosti JUT na veličině D^2/100Rp, která representuje tzv. elektrický objem. Docílený korelační koeficient r = 0,892 patří k doposud největší autorem docílené hodnotě.

Tab 2. Korelace mezi veličinami BIA a srovnávacími fyzikálními hodnotami

	Levá půlka JUT [kg]	SV [kg]	S [kg]	MLLT [kg]
D^2/1Xcp [cm2/ohm]	0,828	0,809	0,775	0,864
100Xcp/L [ohm/m]	-0,738	-0,818	-0,796	-0,903
100Xcp/D [ohm/m]	-0,753	-0,832	-0,810	-0,906
100Rp/D [ohm/m]	-0,850	-0,841	-0,779	-0,906
L^2/100Rp [cm2/ohm]	0,883	0,763	0,686	0,846
D^2/100Rp [cm2/ohm]	0,892	0,785	0,707	0,850
D^2/100Xcp [cm2/ohm]	0,823	0,809	0,772	0,906

SV … nízký roštěnec (včetně kostí) *MLLT sval musculus longissimus lumborum et thoracis*
S … roštěná *L … délka JUTs* *D … vzdálenost elektrod*

Relativně velmi vysoký stupeň korelace byl zjištěn mezi hmotností svíčkové (LNSZ) a hodnotami BIA. Měrná hodnoty resistance (100Rp/D) i reaktance (100Xcp/D) měřené při frekvenci 100kHz vykazují vysoké korelace r = 0,907 a r = 0,906, a jsou tudíž dobrými prediktory pro předpověď hmotnosti tohoto svalu.

Korelace veličin BIA na druhé skupině hodnot získaných pomocí videoanalýzy (VIA) jsou uvedeny v Tab 3. Veličiny VIA jsou relativní a absolutní proměnné vypočítané z prahovaných a segmentovaných objektů (ploch) svaloviny, tuku a kostí. Nejvyšší závislosti k ploše svaloviny vykazují veličiny odvozené z reaktance 100Xcp (100Xcp/L …r = 0,816 a L^2 / 100Xcp…r = 0,836). I zde je vidět vysoká závislost reaktance na množství svaloviny , a proto lze předpokládat že veličiny odvozené z reaktance měřené při frekvenci 100kHz budou vykazovat dobrý odhad podílu libové svaloviny v jatečném těle.

Tab 3. Korelace mezi veličinami BIA a srovnávacími hodnotami získanými analýzou obrazu

	sval [cm^2]	tuk [cm^2]	% svalu	% tuku	Sval/(sval+ tuk)[%]
100Rp/L [ohm/m]	-0,810	0,484	-0,743	0,634	-0,671
100Xcp/L [ohm/m]	-0,816	0,382	-0,688	0,557	-0,592
L^2/100Rp [cm^2/ohm]	0,796	-0,516	0,746	-0,652	0,685
1Xcp/100Xcp [ohm/m]	0,575	-0,595	0,726	-0,691	0,715
D^2/100Xcp [cm^2/ohm]	0,783	-0,476	0,737	-0,630	0,664
L^2/100Xcp [cm^2/ohm]	0,836	-0,498	0,761	-0,651	0,685

Regresní analýza byla zaměřena na nalezení nejlepších regresních modelů (rovnic) pro odhad vybraných referenčních hodnot – váhy svíčkové (LNSZ), relativního podílu podílu svaloviny (%sval) a tuku (%tuk) podle VIA. Nejpřesněji je odhadována váha MLLT podle regresní rovnice

$$MLLT = 12{,}211 - 3{,}41*10^{-2} * 1Rp/D - 8{,}19*10^{-3} * 100Xcp/D - 0{,}463 * 100Xcp/1Xcp$$

u které byl docílen koeficient determinace $r^2 = 0{,}88$ a koeficient korelace $r = 0{,}94$. Vzhledem k tomu , že zmasilost podle EU je významně závislá na podílu masa třídy I , jak uvádí Bohuslavek (2002a), lze očekávat dobrý odhad třídy zmasilosti z pomocí těchto veličin. Nejlepší regresní rovnice pro odhad rel. podílu svaloviny (% sval) podle VIA vykazuje koeficient determinace $r^2 = 0{,}71$. Nejlepší rovnice pro odhad relativního podílu tuku podle VIA je presentována regresním modelem s koeficientem determinace $r^2 = 0{,}79$ a jde doposud nejlepší docílený výsledek v přímém odhadu podílu tukové tkáně v JUT. Ve všech rovnicích jsou hladiny významnosti nezávislých proměnných menší než $P<0.05$, ale ve velké většině menší než $P<0{,}005$.

Literatura

Bohuslavek,Z.,(2000a): Estimation of EUROP-Conformation and Fatness of Beef Carcasses by Bioelectrical Impedance Analysis., CIGR Electronic journal, www.agen.tamu.edu/cigr, Vol. II, (3), p.1-10.

Bohuslavek, Z., Augustini,C., Branscheid,W., (2000b): Estimation of EUROP- Conformation and Fatness of Beef Carcasses by Bioelectrical Impedance Analysis. Scientia Agriculturae Bohemica, 31, (1), p. 55-64.

Bohuslavek, Z.(2002a): Analysis of the commercial grades for beef carcasses, Czech Journal of Animal Science, 47,2002,(3), v tisku.

Bohuslavek, Z.(2002b): Estimation of beef carcasses conformation carried out at a high-performance abattoir line, based on an impedance method. Czech Journal of Animal Science, 47,2002,(4), v tisku.

Hegarty R.S., McPhee m.J., Oddy V.H (1998): Prediction of the chemical composition of lamb carcasses from multi-frequency data., Britisch journal of Nutrition, 79, p. 169-176

Jenkins, T.G., Leymaster, K. A., and Turlington. L. M. (1988): Estimation of fat-free soft tissue in lamb carcasses by use of carcass and resistive impedance measurements. Journal of Animal Science 66, p.2174 -9.

Lukaski,C.,H., (1987): Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. The American Journal of Clinical Nutrition; 46, p. 537-556.

Lukaski, C.H. - Johnson, E.P. - Bolonchuk, W. W., (1985): Assessment of fat free using bioelectrical impedance measurements of the human body.The American Journal of Clinical Nutrition 41, 1985, p. 810-.

Swantek, P.,M., Lukaski, H.,C., (1991): Bioelectrical Impedance: A Nondestructive Method to Determine Fat-free Mass of live Market Swine and Pork carcasses. J. Anim.Sci.,1991, 70, p. 169-177.

Swantek, P. M., Creschaw, J. D., Marchello, M. J., Lukaski, H. C.(1992): Bioelectrical impedance a non-destructive method to determine fat-free mass of live market swine and pork carcasses. Journal of Animal Science 70, 1992, p.169-77.

Adresy autorů:

Doc. Ing. Zdeněk Bohuslávek,CSc.
Česká zemědělská univerzita, Technická fakulta, Kamýcká 129, 16521 Praha 6 tel.:02-24383300, fax.: 02-20921361, *e-mail: bohuslav.zd@seznam.cz*

Doc. Ing. Petr Pipek,CSc., Ing. Jan Malý
Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 166 28 Praha 6
e-mail:petr.pipek@vscht.cz

Poznámka

Práce se uskutečnila s podporou GAČR 102/01/1344.

TUKOVÉ NÁSADY NA BÁZI DEFINOVANÝCH STRUKTUROVANÝCH TRIACYLGLYCEROLŮ

Kůtek T., Filip V., Šmidrkal J., Bartošová E.
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav technologie mléka a tuků, Technická 5, 166 28 Praha 6

SOUHRN

Synteticky připravené symetrické a asymetrické strukturované triacylglyceroly (30 % hm.) tvořily ve směsi s bezerukovým řepkovým olejem modelové tukové násady. V závislosti na složení tukových násad byl sledován bod tání, bod tuhnutí, obsah pevných podílů, rheologické vlastnosti, velikost krystalů a jejich krystalická modifikace.

ÚVOD

Strukturní tuk tvoří spolu s kapalným rostlinným olejem (bezerukovým řepkovým, slunečnicovým, sojovým) základ tukové násady při výrobě margarinů. Strukturní tuk je plastický tuk, který určuje mikrostrukturu tukové násady a současně je nositelem viskoplastických tixotropních vlastností.

Pro získání tukových násad s požadovanými vlastnostmi se provádí chemická modifikace běžných rostlinných olejů. Používá se parciální katalytická hydrogenace a transesterifikace s tuky obsahujícími nasycené mastné kyseliny. Při parciální katalytické hydrogenaci vznikají *trans*-izomery oktadecenových kyselin, které jsou nositeli viskoplastických tixotropních vlastností (Fritshe, 1997; Steinhart, 1996). V posledních letech se o *trans*-izomerech nenasycených kyselin mluví v souvislosti s jejich nepříznivým vlivem na lidský organismus. Proto dochází k výraznému snižování obsahu *trans*-izomerů mastných kyselin v tukových násadách. Alternativním postupem využívaným v praxi je transesterifikace. Vhodnou surovinou pro transesterifikaci je např. kokosový tuk obsahující mastné kyseliny C 8:0 až C 16:0. Strukturní tuky lze proto získat randomizací směsi triacylglycerolů kokosového nebo palmojádrového tuku s palmstearinem nebo plně ztuženými rostlinnými oleji.

Při transesterifikaci vzniká vždy složitá směs triacylglycerolů, a proto byly syntetizovány definované struktury triacylglycerolů, které svým složením odpovídají strukturám přítomným ve směsi vzniklé při transesterifikaci. Tyto definované strukturované trinasycené triacylglyceroly byly použity jako nositelé tixotropních viskoplastických vlastností tukových násad ve směsi s bezerukovým řepkovým olejem. Koncentrace strukturovaných triacylglycerolů byla ve všech tukových násadách 30 % hm. Všechny tukové násady byly tvořeny směsí dvou nebo tří strukturovaných triacylglycerolů v různých vzájemných poměrech.

Cílem práce byla příprava modelových tukových násad s obsahem strukturovaných triacylglycerolů a zjištění jejich bodů tání, bodů tuhnutí, obsahů pevných podílů (SFC) v závislosti na teplotě, mezí toku (rotační rheometrií v uspořádání deska-deska), velikostí krystalů a krystalických modifikací (infračervenou spektroskopií (Whittam, 1975)).

POUŽITÉ STRUKTUROVANÉ TRIACYLGLYCEROLY

Všechny použité TAG byly syntetizovány na Ústavu technologie mléka a tuků.

-asymetrické triacylglyceroly		**-symetrické triacylglyceroly**	
1,2-dikaprinoyl-3-stearoylglycerol	(CiCiSt)	1,3-dikaprinoyl-2-stearoylglycerol	(CiStCi)
1,2-dilauroyl-3-stearoylglycerol	(LaLaSt)	1,3-dilauroyl-2-stearoylglycerol	(LaStLa)
1,2-dimyristoyl-3-stearoylglycerol	(MyMySt)	1,3-dimyristoyl-2-stearoylglycerol	(MyStMy)

VÝSLEDKY A DISKUSE

Čistota použitých TAG byla zjišťována metodou TLC-FID, u asymetrických TAG byla vyšší než 98,5 % a u symetrických TAG vyšší než 98,2 %. Molární poměr dvou hlavních mastných kyselin u všech TAG byl ověřen metodou GLC. Obsah volných mastných kyselin v produktech byl stanoven jako číslo kyselosti.

Tabulky 1 a 2 obsahují naměřené hodnoty bodů tání a tuhnutí. Vyplývá z nich vliv prostorového uspořádání mastných kyselin v TAG. Tukové násady obsahující symetrické TAG vykazují vždy vyšší hodnoty sledovaných veličin než tukové násady s odpovídajícími asymetrickými TAG. Krystalická modifikace krystalů v tukových násadách byla sledována metodami infračervené spektroskopie a polarizační optické mikroskopie. Z výsledků obou metod vyplývá, že technologicky žádané malé krystaly v modifikaci β' obsahují všechny tukové násady se symetrickými TAG s kyselinou laurovou a myristovou.

Na obrázcích 1 a 2 jsou znázorněny průběhy SFC profilu v závislosti na teplotě. Nejprudší pokles SFC byl zaznamenán u tukových násad s asymetrickými TAG, zejména se směsí LaLaSt a CiCiSt a u směsi všech tří asymetrických TAG. Nejpozvolnější pokles SFC vykázala tuková násada se směsí symetrických TAG s kyselinou laurovou a myristovou.

Mez toku byla měřena v uspořádání deska-deska. Pro porovnání tukových násad byla vždy jako mez toku odečtena hodnota smykového napětí při smykové rychlosti 0,1 s^{-1}. Při této smykové rychlosti již dochází k toku. U všech tukových násad se směsí symetrických TAG LaStLa a MyStMy a se směsí LaStLa, CiStCi a MyStMy došlo k anomálnímu chování, které bylo způsobeno skutečností, že mez toku s rostoucí teplotou rostla.

Vztah mezi mezí toku a SFC pro modelové tukové násady je znázorněn na obrázcích 3 a 4. K atypickému chování modelových tukových násad došlo pouze v případě použití směsi TAG LaStLa a MyStMy a směsi LaStLa, CiStCi a MyStMy. Vztah obou sledovaných veličin byl u ostatních tukových násad analogický k závislostem, které byly zjištěny pro tukové násady na bázi transesterifikovaných tuků (Filip, 1995).

Sledována byla také závislost bodů tání binárních směsí TAG na koncentracích jednotlivých TAG. Směsi asymetrických TAG LaLaSt s CiCiSt a LaLaSt s MyMySt tvořily eutektikum při koncentraci TAG s vyšším bodem tání 20 % hm., směsi symetrických TAG LaStLa s CiStCi a LaStLa s MyStMy při koncentraci TAG s vyšším bodem tání 10 % hm.

Body tání a tuhnutí a krystalická modifikace krystalů modelových tukových násad

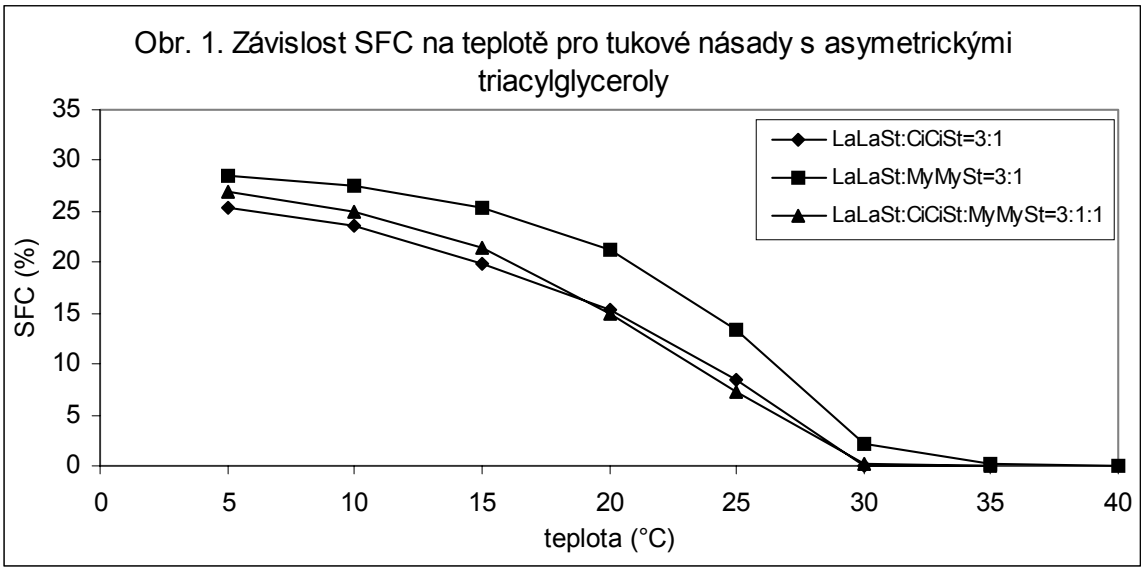
Tabulka 1: Modelové tukové násady s asymetrickými triacylglyceroly

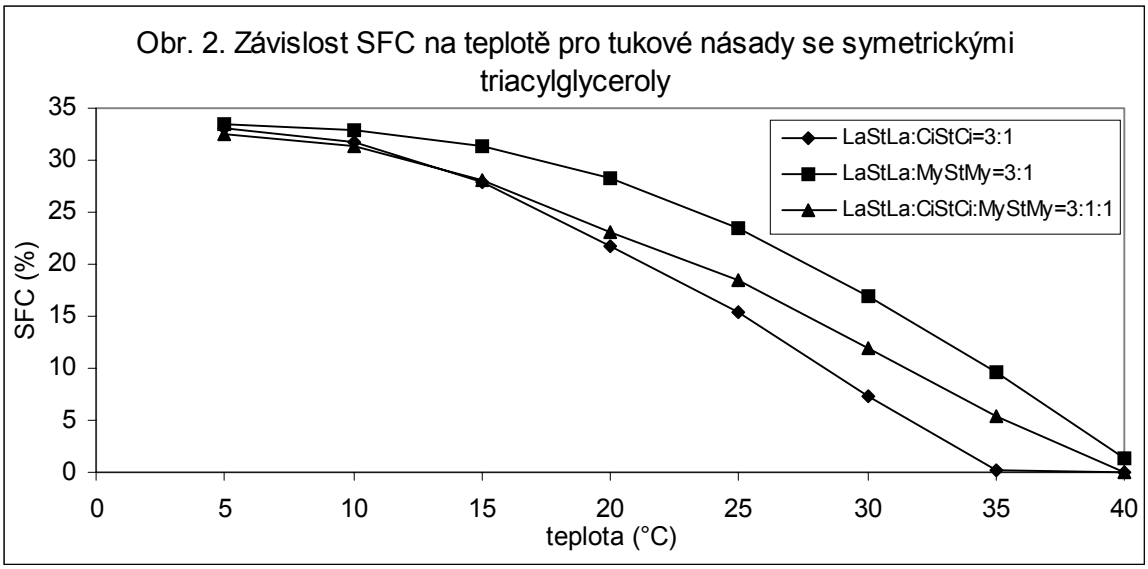
TN*	použité TAG	poměr TAG	b.tání (°C)	b.tuhnutí (°C)	krystalická modifikace	
					IČ	PSM**
1	LaLaSt, CiCiSt	2,33:1	26,8	11,9	β+(β')	β+(β')
2	LaLaSt, CiCiSt	3,00:1	27,0	12,8	β+(β')	β+(β')
3	LaLaSt, CiCiSt	4,00:1	27,6	13,1	β+(β')	β+(β')
4	LaLaSt, MyMySt	2,33:1	29,2	22,4	β+β'	β+β'
5	LaLaSt, MyMySt	3,00:1	28,6	22,6	β'	β'
6	LaLaSt, MyMySt	4,00:1	27,8	22,1	β+β'	β+β'
7	LaLaSt, CiCiSt, MyMySt	3,00:1:1	26,8	19,8	β+β'	β+β'

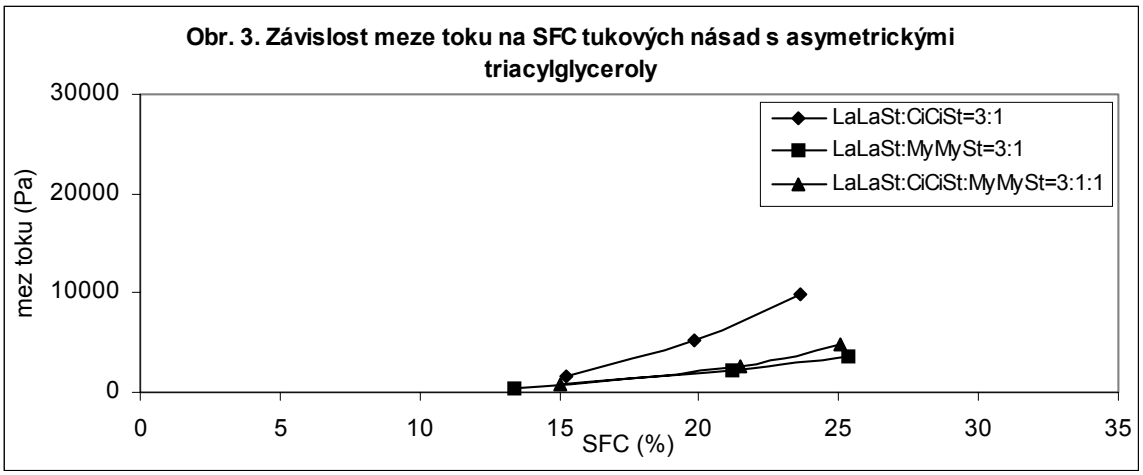
* TN- tuková násada
** PSM- polarizační světelná mikroskopie

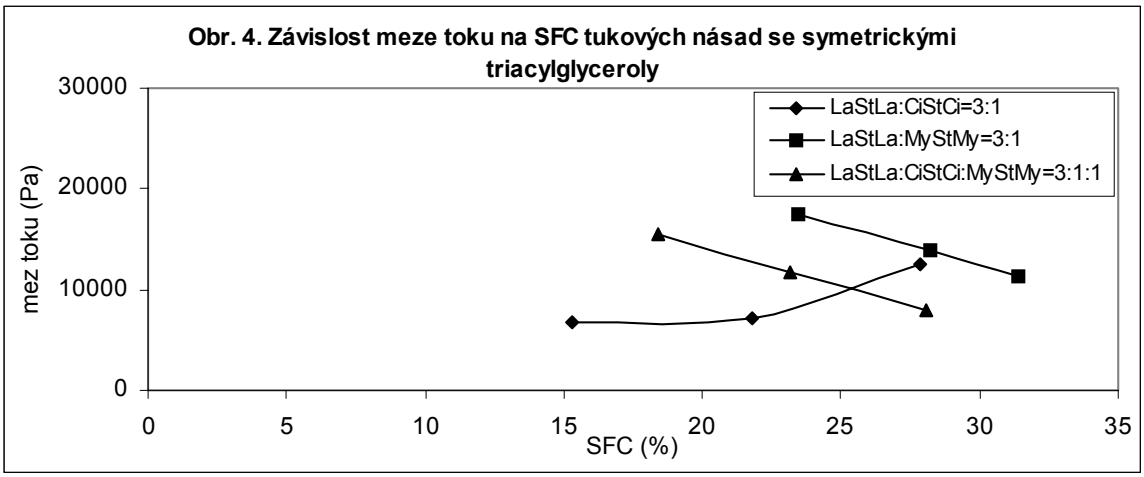
Tabulka 2: Modelové tukové násady se symetrickými triacylglyceroly

TN	použité TAG	poměr TAG	b.tání (°C)	b.tuhnutí (°C)	krystalická modifikace	
					IČ	PSM
8	LaStLa, CiStCi	2,33:1	35,4	26,3	β+(β')	β+(β')
9	LaStLa, CiStCi	3,00:1	36,2	28,5	β+(β')	β+(β')
10	LaStLa, CiStCi	4,00:1	38,0	29,2	β+(β')	β+(β')
11	LaStLa, MyStMy	2,33:1	38,6	29,3	β'	β'
12	LaStLa, MyStMy	3,00:1	37,8	28,2	β'	β'
13	LaStLa, MyStMy	4,00:1	37,4	27,2	β'	β'
14	LaStLa, CiStCi, MyStMy	3,00:1:1	35,9	24,1	β+β'	β+β'




Obr. 2. Závislost SFC na teplotě pro tukové násady se symetrickými triacylglyceroly
SFC (%)
teplota (°C)
LaStLa:CiStCi=3:1
LaStLa:MyStMy=3:1
LaStLa:CiStCi:MyStMy=3:1:1
0
5
10
15
20
25
30
35
40


Obr. 3. Závislost meze toku na SFC tukových násad s asymetrickými triacylglyceroly
mez toku (Pa)
SFC (%)
LaLaSt:CiCiSt=3:1
LaLaSt:MyMySt=3:1
LaLaSt:CiCiSt:MyMySt=3:1:1
0
10000
20000
30000
0
5
10
15
20
25
30
35


Obr. 4. Závislost meze toku na SFC tukových násad se symetrickými triacylglyceroly
mez toku (Pa)
SFC (%)
LaStLa:CiStCi=3:1
LaStLa:MyStMy=3:1
LaStLa:CiStCi:MyStMy=3:1:1
0
10000
20000
30000
0
5
10
15
20
25
30
35

ZÁVĚR

1. Sledované vlastnosti modelových tukových násad jsou závislé na typu strukturovaného triacylglycerolu a jeho koncentraci ve směsi. Modelové tukové násady obsahující symetrické triacylglyceroly vykazovaly vyšší hodnoty bodů tání a tuhnutí než tukové násady s odpovídající směsí asymetrických triacylglycerolů.
2. Krystaly v modifikaci β' byly stanoveny ve všech tukových násadách se symetrickými TAG s kyselinou laurovou a myristovou.
3. Na teplotě nejvíce nezávislý průběh SFC vykázala také tuková násada se směsí symetrických TAG s kyselinou laurovou a myristovou.
4. U tukových násad se směsí TAG LaStLa a MyStMy a se směsí LaStLa, CiStCi a MyStMy byl zaznamenán anomální průběh závislosti meze toku na teplotě. Závislost meze toku na SFC u těchto dvou tukových násad proto neodpovídala průběhu zjištěnému pro tukové násady na bázi transesterifikovaných tuků (Filip, 1995).
5. Z bodů tání binárních směsí připravených TAG vyplývá, že směsi tvoří eutektika.

LITERATURA

1. Filip V., Rendlová I., Schwarz W., Svoboda Z.: Fat Sci. Technol. 97, 319 (1995).
2. Fritshe J., Steinhart H.: Fett/Lipid 99, 214-217 (1997).
3. Steinhart H., Pfalzgraf A.: Fett/Lipid 98, 34-36 (1996).
4. Whittam J.H., Rosano H.L.: J. Am. Oil Chem. Soc. 52, 128-133 (1975).

MOŽNOSTI POVRCHOVÉ DEKONTAMINACE MINIMÁLNĚ OPRACOVANÉ ZELENINY.

Opatová H., Ševčík R., Dufková M.
Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

Za minimálně opracovanou zeleninu (MOZ) se považuje produkt vyrobený z upravené syrové zeleniny, který v maximální míře zachovává původní senzorickou i nutriční hodnotu čerstvé zeleniny a po rozbalení je připraven pro přímou spotřebu nebo k další kulinární úpravě. Minimálně opracované produkty se svým charakterem a kvalitou blíží produktům čerstvým a mají prodlouženou dobu skladovatelnosti při zajištění mikrobiální stability a udržení dobré nutriční a senzorické kvality.

Minimálně opracovaná zelenina je obvykle podrobena důkladnému čištění a praní a zpracována pomocí jedné nebo několika vhodných mechanických operací. Pro zvýšení stability výrobku se může využít mírného konzervačního zákroku spočívajícího např. v minimální tepelné úpravě, regulaci pH, užití dezinfekčního prostředku nebo antioxidantu.

Fyzikální metody antimikrobního ošetření, jako je ozařování či tepelné ošetření, je u MOZ problematické v úvahu přichází použití vysokého hydrostatického tlaku. Je výhodné využít synergického účinku několika ochranných prostředků. Předzpracování a ochranné operace při výrobě MOZ jsou obvykle následovány vhodným zabalením výrobku, respektujícím charakter živých pletiv. Produkt musí být skladován, distribuován a až do spotřeby uchováván při snížené teplotě. Pro zachování vysoké senzorické a nutriční kvality a mikrobiální bezpečnosti je důležité dodržování chladícího řetězce a technologického a hygienického postupu během celého výrobního procesu, distribuce až ke spotřebiteli.

Ke snížení počtu mikrobů a omezení aktivity enzymů lze použít některé dezinfekční a konzervační prostředky, které přispívají ke zvýšení skladovatelnosti i senzorické kvality produktu. Jen některé z nich se v současné době používají v průmyslových linkách. Pro desinfekci potravinářských výrobků a tudíž i salátů z čerstvé opracované zeleniny připadají v úvahu zejména oxidační prostředky jako je peroxid vodíku, kyselina peroctová, halogeny a jejich sloučeniny, ozón a peroxon. K prvotnímu porovnání některých z nich slouží tabulka 1:.

U minimálně opracované chlazené zeleniny je nejčastěji používaným sanitačním prostředkem chlor, nejběžněji ve formě kyseliny chlorné (přidává se jako chlornan).Pro prodloužení uchovatelnosti se doporučuje koncentrace 100 – 200 mg chloru na litr vody jako efektivní opatření pro dezinfekci zeleniny po jejím loupání a/či krájení. Dezinfekci chlorem využívá řada sledovaných evropských podniků produkujících MO zeleninu a ovoce a řada velkých odběratelů tento zákrok vyžaduje. Naproti tomu jiní producenti používají pouze pitnou vodu z toho důvodu, že v některých zemích není chlor pro přímou dezinfekci zeleniny povolen (Německo, Norsko).

Při použití každé z uvedených desinfekčních látek vyžaduje proces desinfekce zeleniny dokonalé monitorování kvality prací vody. Tento monitoring zahrnuje měření koncentrace použitého desinfekčního prostředku, kontrolu pH, doby a teploty praní i množství organických látek ve vodě. Pokud by kvalita vody nebyla sledována, mohla by nastat situace, kdy místo snížení mikrobiální kontaminace bude vycházející produkt více kontaminován na výstupu, než před vstupem.

Tabulka I: Porovnání desinfekčních prostředků použitelných pro ošetření čerstvé zeleniny

Desinfekční prostředek	**Aktivní složka**	**Efektivní koncentrace [ppm]**	**Stabilita**
Peroxid vodíku	H_2O_2	500	stabilní
Persteril	CH_3COOOH	500	stabilní
Chlór	HOCl	50 - 200	stabilní
Ozón	O_3	1	nestabilní*
Oxid chloričitý	ClO_2	1 - 3	nestabilní*
Peroxon	O_3 , H_2O_2	2	nestabilní*

*Je třeba připravit na místě.

Experimentální část:
Pro experimentální část práce byly použity dva druhy zeleniny:
mrkev
zelí hlávkové bílé
Zelenina byla zakoupena v běžné tržní síti a před zpracováním krátce skladována při 4°C.

Příprava vzorků:

V závislosti na druhu suroviny byla zelenina zbavena nepoživatelných části a vhodným způsobem naporcována. U zelí byly nejprve odstraněny nejvíce znečištěné svrchní listy. Po nakrájení na menší části a opláchnutí pitnou vodou bylo zelí následně nakrouháno kuchyňským robotem na nudličky. Mrkev ručně zbavená slupky byla omyta vodou a nastrouhána na robotu ETA 1023. Poté byla ještě propláchnuta pitnou vodou, aby se snížil obsah sacharidické složky, která je dobrým substrátem pro mikroorganismy a zvyšuje tak jejich nárůst. Následně byla zelenina ošetřena desinfekčním prostředkem nebo vysokým tlakem

Ošetření zeleniny desinfekčními roztoky

Odvážené množství zeleniny se na sítu ponořilo na 15 vteřin do připraveného dezinfekčního roztoku. Objem lázně byl šest litrů a ponořené množství zeleniny bylo 500 g. Po ošetření byl vzorek propláchnut v pitné vodě a vložen do odstředivky a vzorek byl zbaven přebytečné vody.

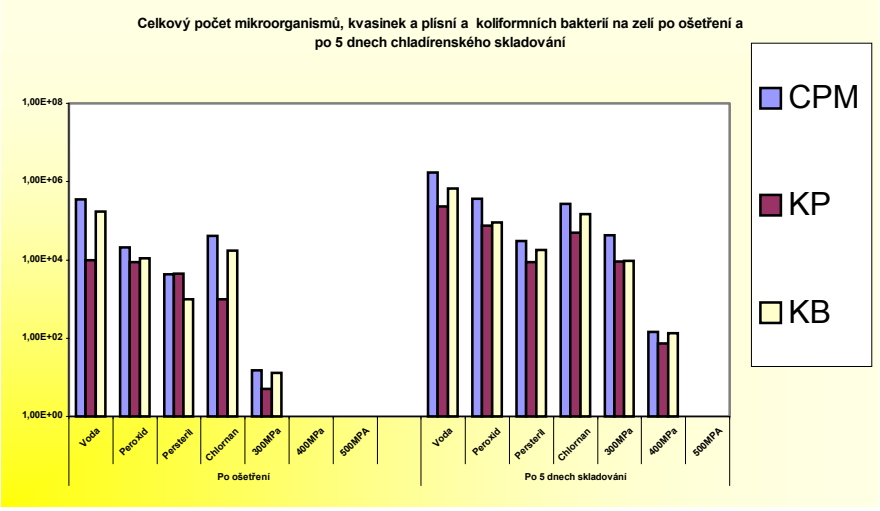
Ošetření vzorků vysokým hydrostatickým tlakem:

Vzorky obou surovin byly ošetřeny tlaky 300, 400 a 500 MPa, a to vždy po dobu 5 minut. Pro ošetření byly použity vždy dva paralelní vzorky o teplotě v rozmezí 10 – 16°C.

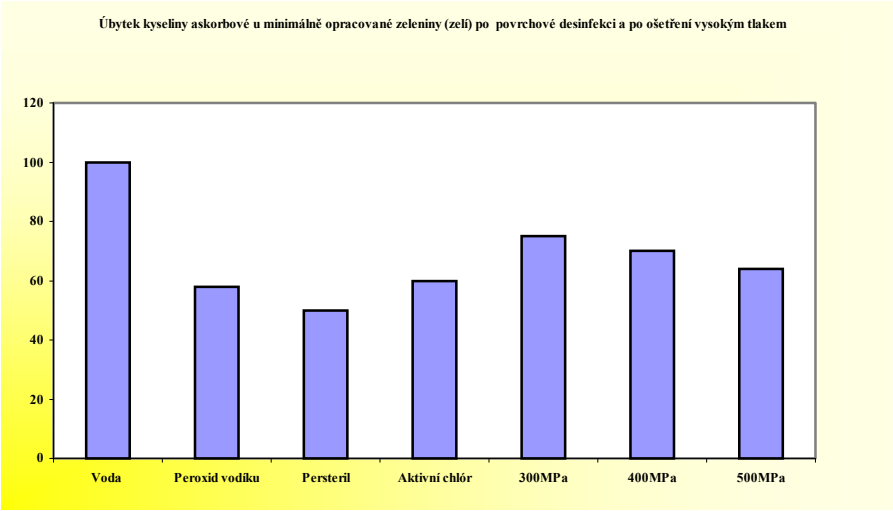
Všechny ošetřené vzorky byly dále porovnávány se vzorkem neošetřeným připraveným stejným postupem. Porovnávala se jednak účinnost ošetření (mikrobiologický rozbor- celkový počet mikroorganismů CPM,počet koliformních bakterií-KB a počet kvasinek a plísně- KP) a jednak vliv na nutriční složky zeleniny (stanovení obsahu kyseliny askorbové- HPLC) Všechny rozbory byly prováděny ihned po ošetření a po pěti dnech chladírenského skladování při 4 °C.

Výsledky:

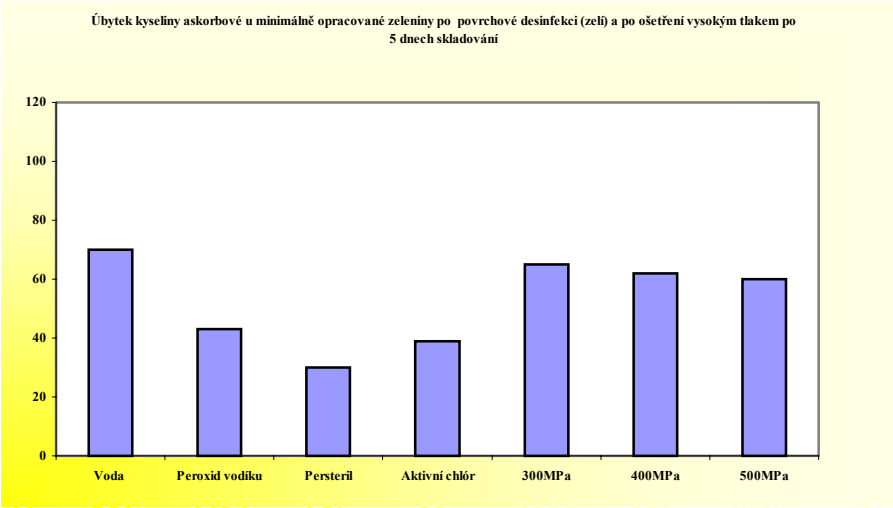
Graf č.1: Porovnání počtu mikroorganismů na zelí po ošetření a po 5 dnech skladování



Graf č.2: Pokles kyseliny askorbové v den ošetření



Graf č.3: Pokles kyseliny askorbové v den ošetření po 5 dnech skladování



Závěr:

- ošetření zeleniny vysokým tlakem je více účinnější než použití desinfekčních roztoků
- nejúčinnějším desinfekčním roztokem byl roztok Persterilu
- vysoký tlak je mnohem více citlivější k nutričním složkám zeleniny než desinfekční roztoky
- z desinfekčních roztoků byl vyhodnocen jako nejcitlivější roztok chlornanu.

Poděkování:
Stlačování zeleniny proběhlo na Výzkumném ústavu potravinářském. Autoři děkují uvedenému ústavu za pomoc a poskytnutí rady.
Práce vznikla za podpory NÁRODNÍ AGENTURA PRO ZEMĚDĚLSKÝ VÝZKUM grantů číslo: EP 9026 a QE 0186.

Literatura:

Chia-Min Lin, Fernando S.Y. and Cheng-i Wei, 1996, Occurrence of *Listeria monocytogenes, Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *E.coli* O157:H7 in vegetable salads, Food Control, 7:135-140

Wiley R.C. (Ed.), 1994, Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman & Hall, New York-London, 269-284

World Health Organization, 1998, Surface decontamination of fruits and vegetables eaten row: a review. WHO/FSF/FOS/98.2

Seymour I.J., 1999, Review of current industry practice on fruit and vegetable decontamination, No. 14, Campden-&-Chorleywood-Food-Research-Association-Review

SIRNÉ LÁTKY TZV. SLADKÉHO ČESNEKU (TULBAGHIA VIOLACEA HARV.)

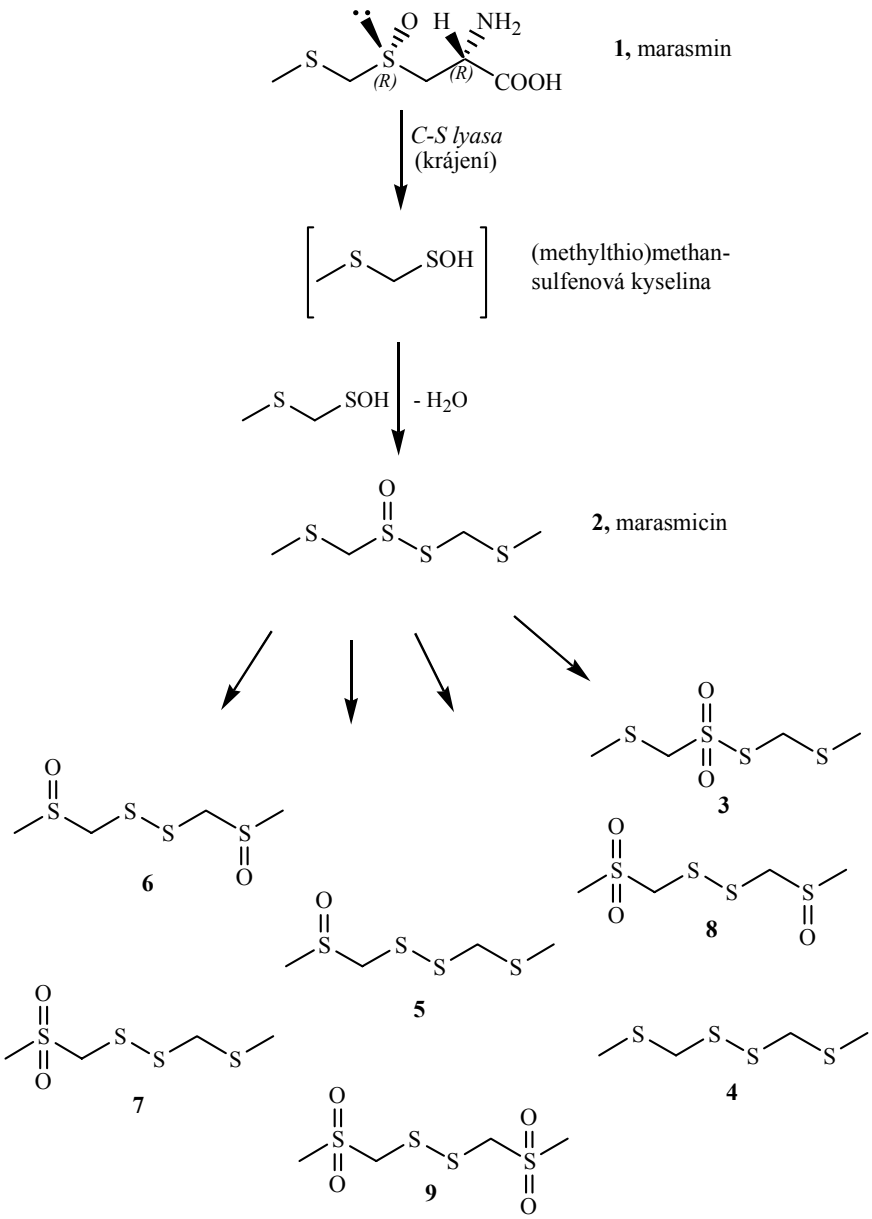
Kubec R.[1,2], Velíšek J.[1], Musah R. A.[2]
1-Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5,166 28 Praha 6
2-Chemistry Department, SUNY Albany, 1400 Washington Ave, 12222 Albany, NY, USA

Tulbaghia violacea Harv. (čeleď Alliaceae) je drobná, stálezelená rostlina pocházející z Jižní Afriky. Její listy při rozemnutí produkují silné, česneku podobné aróma. *T. violacea* je známa pod několika triviálními názvy jako např. „společenský česnek" či „sladký česnek". Tyto lidové názvy vystihují všeobecné přesvědčení, že konzumace této rostliny nezpůsobuje, na rozdíl od česneku, typický „česnekový dech". *T. violacea* je též používána v lidovém léčitelství při léčení mnoha chorob, včetně chřipky, nachlazení, asthma, tuberkulózy a žaludečních potíží. Domorodí příslušníci kmene Zulů také údajně pěstují tuto rostlinu kolem jejich obydlí za účelem odpuzení hadů (Hutchings *et al*., 1996; Wyk *et al*., 2000).

Z vědeckého hlediska nebyla této rostlině prozatím věnována přílišná pozornost. Doposud byly publikovány pouze dvě studie, které se zabývaly chemickým složením *T. violacea*. Jacobsen *et al*. (1968) detegovali tři *S*-substituované deriváty cysteinu, které se jim však nepodařilo blíže identifikovat. Burton & Kaye (1992) izolovali dvě polysirné látky z listů *T. violacea*, a sice 2,4,5,7-tetrathiaoktan a 2,4,5,7-tetrathiaoktan-2,2-dioxid.

Při studiu této zajímavé rostliny se nám podařilo izolovat a identifikovat (pomocí NMR, IČ, MALDI-MS a CD spektrometrie) hlavní prekurzor jejího aróma, (R_S,R_C)-*S*-(methylthiomethyl)cystein-4-oxid (**1**), který je obsažen ve všech částech rostliny (kořenech, listech i stoncích) v množství 0,12 až 0,24 mg.g^{-1} (Kubec *et al*., 2002). Tato unikátní sirná aminokyselina je doprovázena (S_S,R_C)-*S*-methyl- a (S_S,R_C)-*S*-ethylcysteinsulfoxidy, které se však vyskytují pouze ve stopovém množství (< 0,003 mg.g^{-1}), a na tvorbě aróma se proto výrazněji nepodílejí. *S*-(Methylthiomethyl)cystein-4-oxid byl poprvé izolován z několika druhů hub rodu *Marasmius* Fr. (čeleď čirůvkovitých), odtud triviální název této aminokyseliny – marasmin. Posléze byla tato látka nalezena i v plodech stromu *Scorodocarpus borneensis* Becc. (čeleď Olacaceae), hojně rostoucího v Jihovýchodní Asii.

Zjistili jsme, že při krájení či jiném porušení pletiva je *S*-(methylthiomethyl)cystein-4-oxid enzymově štěpen za tvorby 2,4,5,7-tetrathiaoktan-4-oxidu (**2**), který je strukturním analogem thiosulfinátu allicinu známého z česneku (*Allium sativum* L.). Tato nová látka byla tudíž triviálně pojmenována jako marasmicin. Jedná se však o sloučeninu poměrně labilní, která se může rozkládat na rozmanité sekundární produkty, jako např. 2,4,5,7-tetrathiaoktan-4,4-dioxid (**3**), 2,4,5,7-tetrathiaoktan (**4**), 2,4,5,7-tetrathiaoktan-2-oxid (**5**), 2,4,5,7-tetrathiaoktan-2,7-dioxid (**6**), 2,4,5,7-tetrathiaoktan-2,2-dioxid (**7**), 2,4,5,7-tetrathiaoktan-2,2,7-trioxid (**8**) a 2,4,5,7-tetrathiaoktan-2,2,7,7-tetraoxid (**9**) (Obr. 1). Mnohé z těchto látek vykazují velice významné fyziologické vlastnosti, zejména antimikrobiální, antimutagenní a protizánětlivou aktivitu (Block *et al*., 1994; Kubota *et al*; 1994a,b; Lim *et al*.; 1998,1999; Takazawa *et al*., 1982). Při záhřevu poskytuje marasmicin (**2**) celou škálu polysulfidů, jako např. 2,4-dithiapentan, 2,3,5-trithiahexan, 2,3,4,6-tetrathiaheptan a 2,4,5,7-tetrathiaoktan (Rapior *et al*., 1997). Většina těchto sloučenin vykazuje výrazné senzorické vlastnosti s nízkými prahovými hodnotami vnímání.



Obr. 1: Tvorba sirných látek v rostlině *Tulbaghia violacea* Harv.

I když by zajisté bylo výše zmíněné populární lidové přesvědčení o „společenské nezávadnosti“ *T. violacea* spotřebitelsky velice atraktivní, naše pozorování tyto organoleptické vlastnosti nepotvrdila. Ba právě naopak. Listy při žvýkání vykazují mimořádně výrazné česnekové aróma a silně pálivou chuť. Konzumace těchto listů byla navíc doprovázena tvorbou „česnekového dechu“, který přetrval ještě několik hodin po požití.

Ačkoliv se jedná o rostlinu v Čechách stále spíše exotickou, věříme, že se v budoucnu může stát vhodnou alternativou k použití česneku či pažitky, a to nejenom zásluhou svého zajímavého a netradičního aróma, ale též kvůli svým nesporným pozitivním fyziologickým účinkům. Navíc, na rozdíl od pažitky, může na zahrádce plnit také dekorativní funkci díky svým drobným fialovým květům.

Block, E., DeOrazio, R., Thiruvazhi, M., 1994. Simple total syntheses of biologically active pentathiadecane natural products, 2,4,5,7,9-pentathiadecane 2,2,9,9-tetraoxide (dysoxysulfone), from *Dysoxylum richii*, and 2,3,5,7,9-pentathiadecane 9,9-dioxide, the misidentified lenthionine precursor SE-3 from shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *J. Org. Chem.* 59, 2273–2275.

Burton, S.G., Kaye, P.T., 1992. Isolation and characterisation of sulphur compounds from *Tulbaghia violacea*. *Planta Medica* 58, 295–296.

Hutchings, A., Scott, A.H., Lewis, G., Cunningham, A., 1996. Zulu medicinal plants. An Inventory. University of Natal Press, Scottsville.

Jacobsen, J.V., Yamaguchi, Y., Mann, L.K., Howard, F.D., 1968. An alkyl-cysteine sulfoxide lyase in *Tulbaghia violacea* and its relation to other alliinase-like enzymes. *Phytochemistry* 7, 1099–1108.

Kubec, R., Velíšek, J., Musah, R. A. 2002. The amino acid precursors and odor formation in society garlic (*Tulbaghia violacea* Harv.). *Phytochemistry* 60, 21–25.

Kubota, K., Matsumoto, M., Ueda, M., Kobayashi, A., 1994a. New antimicrobial compound from *Scorodocarpus borneensis* Becc. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58, 430–431.

Kubota, K., Ohhira, S., Kobayashi, A., 1994b. Identification and antimicrobial activity of the volatile flavor constituents from *Scorodocarpus borneensis* Becc. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58, 644–646.

Lim, H., Kubota, K., Kobayashi, A., Sugawara, F., 1998. Sulfur-containing compounds from *Scorodocarpus borneensis* and their antimicrobial activity. *Phytochemistry* 48, 787–790.

Lim, H., Kubota, K., Kobayashi, A., Seki, T., Ariga, T., 1999. Inhibitory effect of sulfur-containing compounds in *Scorodocarpus borneensis* Becc. on the aggregation of rabbit platelets. *Biosci. Biotech. Biochem*. 63, 298–301.

Rapior, S., Breheret, S., Talou, T., Bessière, J.-M., 1997. Volatile flavor constituents of fresh *Marasmius alliaceus* (garlic *Marasmius*). *J. Agric. Food Chem*. 45, 820–825.

Takazawa, H., Tajima, F., Miyashita, C., 1982. An antifungal compound from “shiitake” (*Lentinus edodes*). *Yakugaku Zasshi*, 102, 489–491; *Chem. Abstr*. 1982, 97, 69141.

Wyk, B.-E., Oudtshoorn, B., Gericke, N., 2000. Medicinal plants of South Africa. Briza Publications, Pretoria.

STANOVENÍ ZASTOUPENÍ NUTRIČNĚ VÝZNAMNÝCH PRVKŮ V ROSTLINĚ *AMARANTHUS CAUDATUS*

Gregor T., Suchomelová L., Fišera M.
Ústav chemie potravin a biotechnologií, Fakulta chemická VUT Brno, Purkyňova 118, Brno
E-mail: tomulus@email.cz

Úvod

V posledních dekádách našeho století stále stoupá počet obyvatel naší planety a současně hladem a podvýživou trpí 800 miliónů lidí. Od začátku 90. let se stále snižují celosvětové zásoby obilovin. V roce 1995 poklesly na 17 %, tj. pod kritický limit 19 %. Vyspělé státy světa a mezinárodní organizace se stále více zabývají otázkou, jak zabezpečit dostatek potravin pro hladovějící zejména v rozvojových zemích. Pro obyvatele vyspělých států je naopak typický nadbytek potravin, ovšem nevhodných svým složením a nutričními hodnotami. To je také jednou z příčin vzestupu civilizačních onemocnění.

Proto se stále více hledají nové zdroje a způsoby výroby zemědělských komodit, které by ovlivnily současný nepříznivý výživový trend. Hledají se cesty, jak zvýšit dodávku kvalitních obilovin, bohatých na nenasycené tuky, vlákninu, minerály a vitamíny. Právě z těchto důvodů byl znovuobjeven amarant, neboli laskavec.

Cíl a obsah studie

V práci jsou použity dva druhy amarantové mouky (růžová a béžová), a také půda na kterých obě odrůdy amarantu rostly, amarantová mouka byly rozloženy metodami suchého i mokrého mikrovlnného rozkladu a půda byla rozložena metodou mokrého mikrovlnného rozkladu a lučavkovým rozkladem. Byl porovnán obsah vybraných elementů (Na, K, Mg, Ca, P, S, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sn, Si, V, Zn) v mouce i v půdě, a posouzeno, zdali má půda vliv na bioakumulaci elementů v amarantu a jeho mouce. Vybrané prvky byly stanovovány metodami emisní spektrometrie s atomizací indukčně vázaným plazmatem, a metodou atomové absorpční spektrometrie s elektrotermální atomizací (grafitová kyveta).

Amarant

Laskavec je starou kulturní plodinou, která byla s oblibou pěstována na americkém kontinentu. V období před objevením Ameriky jeho roční produkce semen představovala 15 – 20 tisíc tun a po kukuřici a fazoli byl třetí nejrozšířenější plodinou ve Střední Americe. Pěstovali ho staří Aztékové, Inkové a Mayové jako svou základní potravinu, kterou nazývali „svatým zrnem“, a používali ho přírodní léčitelé i při svých rituálních obřadech. Slovo „Amaranthus“ znamená „nesmrtelný“. Nesmrtelnost se vázala k jeho blahodárnému vlivu na

zdraví dětí a poskytování energie a síly bojovníkům. Nejčastěji se využívala semena, ale i zelené části rostlin jako zelenina a krmivo pro hospodářská zvířata.

Po dobytí Mexika Španěly v roce 1519 byly všechny porosty laskavce zničeny a jeho pěstování zakázáno ve snaze potlačit kulturu a náboženství původního obyvatelstva. Ačkoli kukuřice a fazole se staly nejvýznamnějšími potravinovými plodinami na světě, laskavec upadl v zapomenutí, přestal se pěstovat a využívat. Zachoval se na odlehlejších místech hor Střední a Jižní Ameriky a také v drsných podmínkách hornatých oblastí Indie, Nepálu, Tibetu a Číny, díky vysoké adaptabilitě na přírodní podmínky. Mnohé dekorativní typy se dostaly do botanických zahrad v Evropě, zeleninové typy se pěstovaly v Evropě, Africe a Asii.

Botanická a biologická charakteristika amarantu

Amarant – laskavec patří do rodu Amaranthus, čeledi Amaranthaceae – laskavcovité. Rod Amaranthus zahrnuje více než 60 druhů, kde nejvýznamnější jsou Amaranthus cruentus, Amaranthus hypochondriacus a Amaranthus caudatus, které se pěstují pro produkci semen. Ostatní jsou plané a plevelné druhy, z nichž některé se využívají jako listová zeleň. I když genetickým původem neodpovídá čeledi lipnicovitých, je jednou z mála plodin, která má předpoklad stát se plodinou užívanou pro člověka jako obilnina. Proto se nesprávně zařazuje mezi pseudoobilniny.

Laskavec je jednoletá dvouděložná rostlina, 60 – 100 cm vysoká s převislými fialovými soukvětími. Vytváří květenství lata. Plod (nažka, tobolka, nebo bobule) se v době zralosti otevírá víčkem, které má na vrcholu dva ostnaté výrůstky. Většina forem vytváří hluboko pronikající kořen a přímý, nebo rozložitý stonek různé výšky. Vyznačuje se velkým rozmnožovacím potenciálem. Jedna rostlina vyprodukuje obrovské množství (200 tis. až 500 tis.) malých semen čočkovitého tvaru bohatých na bílkoviny a tuk. Průměr semínek je od 0,9 do 1,7 mm a váha se pohybuje mezi 1 000 a 3 000 semínky/gram. Pod tuhou slupkou zrna je na periferii roviny největšího obvodu stočen klíček, zabírající 1/3 obvodu zrna a obkružující perisperm – zásobárnu škrobu. Barva semen se různí od krémové po žlutou a od růžové po černou.

Chemické složení semen laskavce (A. hypochondriacus) a zrna některých obilnin

Charakteristika (%)	Laskavec	Kukuřice	Rýže	Pšenice
Vlhkost	11,1	13,8	11,7	12,5
Hrubé bílkoviny	17,9	10,3	8,5	14,0
Tuk	7,7	4,5	2,1	2,1
Vláknina	2,2	2,3	0,9	2,6
Popel	4,1	1,4	1,4	1,9
Škrob	57,0	67,7	75,4	66,9

Metoda ICP-OES

První krok při vytváření metody byl výběr prvků, které se budou stanovovat. Prvky byly vybrány podle toho zda patří do skupiny esenciálních prvků, tedy ty, které člověk musí přijímat v potravě, aby byly zajištěny důležité biologické funkce. Po výběru prvků byly z databanky přístroje vybrány čáry o vhodné vlnové délce a intenzitě, tak aby byly pokryty oblasti stopového výskytu prvků, ale i oblasti s vysokou koncentrací prvků. Do metody byla zahrnuta korekce mezielementových interferencí

Metoda ETV-AAS

Tato instrumentální metoda byla zvolena pro stanovení stopových prvků, tedy prvků, které se při měření metodou ICP - OES nacházely na hladině šumu nebo pod mezí detekce. ETA - AAS je na rozdíl od ICP - OES více specifická a poskytuje nižší meze detekce. Před vlastním stanovením každého prvku byla provedena optimalizace pracovních podmínek sestrojením atomizačních křivek, podle kterých byly optimalizovány parametry grafitové pece. Dávkování a ředění roztoků obstaral automatický dávkovač vzorků
Obsah prvků v půdě byl větší než v mouce, proto bylo nutno vzorky půdy ředit, a také byla provedena kalibrace zvlášť pro mouky a zvlášť pro půdy.

Závěry

Z naměřených výsledků vyplývá, že metoda ICP - OES je vhodnější pro stanovení majoritních prvků a ETA - AAS lze výhodně použít pro minoritní a stopové elementy. ETA - AAS oproti ICP - OES dosahuje nižších mezí detekce a stanovitelnosti, není téměř zatížena spektrálními interferencemi, avšak doba analýzy je ve srovnání s druhou metodou delší. ICP - OES má vyšší meze detekce a stanovitelnosti a měření je více ovlivněno spektrálními interferencemi. Metoda ICP-OES umožňuje rychlou mnohoprvkovou kvantitativní analýzu
Z měření oběma metodami vyplývá, že prvky více zastoupené v půdě jsou také více obsažené v mouce, tyto prvky tedy amarant dokáže pravděpodobně kumulovat, nicméně pro ověření závěrů by bylo třeba provést více experimentů s rostlinami (obiloviny) a obsahem prvků v půdě, na které rostly, proto má tato studie charakter spíše úvodní do celé problematiky.

UTVÁŘENÍ SLADOVNICKÝCH ZNAKŮ JARNÍHO JEČMENE ZAORÁVKOU ŘEPNÉHO CHRÁSTU

Koutná K., Zimolka J.
Ústav pěstování a šlechtění rostlin, MZLU Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno

V České republice představuje ječmen v posledních letech ve struktuře obilnin podíl 30 %, na jarní ječmen připadá v celé struktuře obilnin 21,5 % (2000). Z celkové produkce ječmene je u nás většina (70 %) spotřebována ke krmení, především monogastrických zvířat. V produkčních oblastech sladovnického ječmene, které se vedle řepařského výrobního typu v posledních letech rozšířily o příznivé polohy obilnářské a bramborářské výrobní oblasti, je za tradiční předplodinu jarního sladovnického ječmene považována cukrovka, která vytváří dobré předpoklady pro tvorbu výnosu zrna s požadovanými kvalitativními parametry, zejména z hlediska obsahu dusíkatých látek a extraktu.

Nové technologie sklizně cukrovky, stále rostoucí podíl zemědělských podniků orientovaných na tržní rostlinnou produkci bez chovu hospodářských zvířat a snížená potřeba využívání chrástu pro krmné účely. Tento, v našich podmínkách poměrně nový prvek v agrotechnice jarního ječmene, představuje značné množství organické hmoty a živin, které se dostává do půdy. Zaoraný chrást tak na jedné straně při snižování produkce chlévského hnoje plní roli náhradního zdroje přímého organického hnojení s pozitivními účinky na úrodnost a živinný režim půd, na druhé straně však nezůstává bez vlivu na sladovnickou kvalitu jarního ječmene, typickou plodinu staré síly. Chrást je zapravován zpravidla pozdě na podzim, takže jeho rozklad v půdě závisí na průběhu teplot v zimě. Největší problémy mohou mít pěstitelé sladovnického ječmene, jestliže je během zimy půda zmrzlá a jaro suché. Uvolňování dusíku mineralizací je posunuto do druhé poloviny vegetace, kdy může nepříznivě ovlivnit obsah dusíkatých látek v zrnu sladovnického ječmene.

Cílem práce je řešení celkové problematiky vlivu zaorávky řepného chrástu na výnos a jeho strukturu, sladovnickou hodnotu jarního ječmene a pěstební technologii eliminující nežádoucí vliv kvality jarního ječmene.

Pro polní pokus zakládaný v letech 1997 – 2001 na ŠP v Žabčicích byla použita metoda dlouhých dílců kolmo dělených. Vzhledem k záplavám v roce 1997 kdy došlo k totálnímu zničení porostů na pokusných pozemcích, jsou zpracovány výsledky z let 1998 – 2001.

Byly sledovány 3 varianty hospodaření s chrástem cukrovky, jako předplodiny pro jarní ječmen:

A – časná zaorávka chrástu (polovina října)
B- pozdní zaorávka chrástu (polovina listopadu)
C- bez chrástu

Varianty hnojení N (1 – 2)

1- N- 0 $kg.ha^{-1}$
2- N- 30 $kg.ha^{-1}$

Zařazeny byly dvě špičkové sladovnické odrůdy Amulet a Kompakt s výsevkem 3,5 a 4,5 $MKS.ha^{-1}$.

Před zaoráním byl chrást rozdrcen a rovnoměrně navrstven na příslušných parcelách.

Aplikace N byla jednorázová před setím spolu s hnojením P a K ve formě kombinovaného hnojiva SYNFERTA.Použití pesticidů proti plevelům, chorobám a škůdcům odpovídalo běžným zásadám podle určení prahů škodlivostí.

Každá varianta byla založena ve 4. opakováních při velikosti parcel 12,5 m^2. Pro odběry rostlin byla oddělena odběrová parcela o ploše 2,5 m^2, ke sklizni se ponechalo 10 m^2.

Hospodářský výnos zrna byl stanoven ze sklizňových parcel (10 m^2) po vysušení (14%) a předčištění. To pak posloužilo k odběru vzorků pro stanovení objemové hmotnosti, HTS, podílu předního zrna a vzorků na stanovení základních ukazatelů sladovnické kvality (obsah N-látek, škrobu) a k mikrosladovací zkoušce.
Získané výsledky byly zpracovány pomocí programu Statgraphics 7.0 analýzou variance a následným testováním podle Tukeye ($P \leq 0,05$).

Tab. 1: Výnosy zrna ječmene ($t.ha^{-1}$)

Kompakt

Varianty	Rok	A-N_0	A-N_{30}	B-N_0	B-N_{30}	C-N_0	C-N_{30}	Průměr
Výnos ($t.ha^{-1}$)	1998	6,68	6,95	5,93	6,55	5,85	6,05	6,34
	1999	7,70	7,55	7,35	7,28	7,18	7,23	7,38
	2000	5,30	5,61	5,35	5,78	5,75	5,91	5,62
	2001	4,57	5,17	4,39	4,92	4,46	4,68	4,70
Průměr		6,06	6,32	5,76	6,13	5,81	5,97	6,01

Amulet

Varianty	Rok	A-N_0	A-N_{30}	B-N_0	B-N_{30}	C-N_0	C-N_{30}	Průměr
Výnos ($t.ha^{-1}$)	1998	6,80	7,20	5,70	6,20	5,50	6,00	6,23
	1999	7,25	7,20	7,20	7,40	6,93	6,75	7,12
	2000	4,89	5,10	4,86	5,10	5,28	5,18	5,07
	2001	4,94	5,24	5,51	5,44	4,95	5,13	5,20
Průměr		5,97	6,19	5,82	6,04	5,67	5,77	5,90

Tab. 2: Mechanické vlastnosti zrna ječmene

Kompakt

Varianty	Rok	A-N_0	A-N_{30}	B-N_0	B-N_{30}	C-N_0	C-N_{30}	Průměr
PPZ(%)	1998	88,5	85,3	90,5	89,5	88,7	90,2	88,78
	1999	65,2	64,9	83,1	80,6	80,5	79,8	75,68
	2000	75,6	76,1	74,7	77,5	79,3	73,7	76,15
	2001	74,9	77,7	81,7	80,5	76,6	74,2	77,60
Průměr		76,05	76,00	82,5	82,03	81,28	79,47	79,55

Amulet

Varianty	Rok	A-N_0	A-N_{30}	B-N_0	B-N_{30}	C-N_0	C-N_{30}	Průměr
PPZ(%)	1998	95,1	93,4	94,8	95,4	95,2	95,4	94,88
	1999	73,4	73,2	85,6	80,70	88,8	81,7	80,57
	2000	89,4	89,6	87,9	89,3	88,9	86,9	88,66
	2001	90,0	89,9	86,7	88,8	83,5	77,2	86,02
Průměr		86,98	86,53	88,75	88,55	89,10	85,30	87,53

Tab. 3: Chemické vlastnosti zrna

Kompakt

Varianty	Rok	A-N_0	A-N_{30}	B-N_0	B-N_{30}	C-N_0	C-N_{30}	Průměr
Bílk.(%)	1998	10,5	11,3	9,8	10,5	9,5	9,9	10,25
	1999	11,6	12,1	11,7	11,7	11,4	11,5	11,67
	2000	13,6	14,3	13,9	14,2	13,9	14,4	14,05
	2001	12,5	13,0	12,5	13,2	13,5	13,3	13,00
Průměr		12,05	12,68	11,98	12,40	12,08	12,28	12,25
Škrob (%)	1998	65,7	64,1	66,4	65,3	65,9	66,5	65,65
	1999	63,3	61,2	62,9	62,9	62,7	64,0	62,83
	2000	61,8	59,9	61,3	61	61,4	60,7	61,02
	2001	61,5	61	61,5	60,9	60,5	60	60,90
Průměr		63,08	61,55	63,03	62,53	62,63	62,80	62,60

Amulet

Varianty	Rok	A-N_0	A-N_{30}	B-N_0	B-N_{30}	C-N_0	C-N_{30}	Průměr
Bílk.(%)	1998	11,3	11,9	10,7	11,3	10,2	10,6	11,00
	1999	11,8	11,9	10,5	11,2	10,1	10,0	10,92
	2000	14,9	14,4	15,3	16,1	15,9	15,4	15,33
	2001	12,1	12,6	12,1	12,4	12,8	13,4	12,56
Průměr		12,53	12,70	12,15	12,75	12,25	12,35	12,45
Škrob (%)	1998	64,8	64,1	65,2	64,6	64,6	64,1	64,57
	1999	63,7	63,0	63,8	63,7	65,7	63,0	63,82
	2000	57,7	59,6	57,8	58,0	60,0	59,4	58,76
	2001	62,9	62,8	62,9	63,1	61,5	61,0	62,36
Průměr		62,28	62,38	62,43	62,35	62,95	61,87	62,38

Všechny sledované parametry jakosti ječmene i sladu ovlivnil statisticky významně ročník.

Výnos zrna byl statisticky velmi vysoce ovlivněn ročníkem a hospodařením s chrástem. Statisticky velmi vysoce významný vliv oproti zbylým variantám, měl časně zaoraný chrást (6,14 t. ha^{-1}). Nebyl zjištěn rozdíl mezi pozdní zaorávkou chrástu (5,94 t. ha^{-1}) a sklizeným chrástem (5,81 t. ha^{-1}).Vyjímkou jsou extrémně suché a teplotně příznivé zimy (rok 2000).

Srážkově deficitní rok 2000 vyhovoval více odrůdě Kompakt (5,26 t. ha^{-1}), rok 2001 byl z pohledu úhrnu srážek příznivější odrůdě Amulet (5,20 t. ha^{-1}) oproti odrůdě Kompakt (4,70 t. ha^{-1}).

Aplikace dusíkatého hnojiva v dávce 30 kg. ha^{-1} způsobila oproti variantě bez aplikace N hnojiva nárůst výnosu o 0,22 t.ha^{-1}.

U všech sledovaných mechanických parametrů (PPZ %) dosáhla lepších výsledků odrůda Amulet (87,53%) oproti odrůdě Kompakt (79,55%).

Časná zaorávka chrástu velmi vysoce významně negativně ovlivnila průměrnou výtěžnost předního zrna (81,41%) oproti pozdní zaorávce (85,46%) a chrást sklizen (83,79%).

Varianta nehnojená (0 kg. ha^{-1}) statisticky významně zvýšila podíl předního zrna (84,11%) oproti variantě hnojení (30 kg. ha^{-1}, 82,98%).

Ročníky pěstování měly statisticky velmi vysoce významný vliv (P≥0,001) na variabilitu hodnot obsahu dusíkatých látek v obilkách. Ročník (1998) s nejnižším obsahem bílkovin (10,63%) v zrnu měl současně nejvyšší obsah škrobu (65,11%) a naopak, technologicky nevhodná jakost ječmene byla v roce 2000, kdy mělo zrno nejvyšší obsah bílkovin (14,6%) a nejnižší obsah škrobu (59,87%).

Vliv doby zaorávky chrástu (časná zaorávka, pozdní zaorávka a chrást sklizen) se statisticky vysoce významně projevila v základním parametru technologické jakosti ječmene - obsah bílkovin. Po časné zaorávce (varianta A) se zvýšil obsah bílkovin o 2 % (12,49%), při pozdní zaorávce o 0,7% (12,32%) oproti variantě bez chrástu (12,24%). Nebyla prokázána statistická významnost rozdílů mezi variantou chrást sklizen a variantami chrást časně zaorán a pozdně zaorán u žádné ze sledovaných technologických parametrů.

Minerální hnojení 30 kg .ha $^{-1}$ statisticky významně zvýšilo obsah bílkovin (12,53 %) oproti variantě nehnojené (12,17%).

Byly prokázány statisticky významné odrůdové rozdíly v technologických parametrech. Odrůda Kompakt vykázala statisticky významně vyšší obsah bílkovin v zrnu (13,00%) oproti odrůdě Amulet (12,56 %). Odrůda Amulet vykazovala statisticky významně nižší obsah škrobu (62,38%) oproti odrůdě Kompakt (62,60%).

Literatura

1. Kříž, J.: Ovlivnění podílu předního zrna a obsahu N v zrnu sladovnického ječmene předplodinou cukrovkou. Diplomová práce, Brno: MZLU, 2001.
2. Míša, P., Onderka, M.: Vliv zaorávky chrástu cukrovky na výnos a kvalitu jarního ječmene. Úroda, roč.46, 1998, č.2, s.44-45.
3. Onderka, M.:Zaorávka chrástu cukrovky, její vliv na sladovnickou kvalitu jarního ječmene a modifikace pěstební technologie.Příloha k závěrečné zprávě za rok 2000, ZVÚ Kroměříž, 2000.
4. Vícha, D.: Struktura výnosu a podíl předního zrna jarního ječmene při zaorání chrástu cukrovky. Diplomová práce, Brno: MZLU, 1999.
5. Zimolka, J. et al.: Effect of the ploughingin of sugar – beet tops on the yield and quality of malt barley. Procedings of the International Conference, ISTRO, Brno, 1999, s. 216 – 220.

EKOLOGICKÉ ZEMĚDĚLSTVÍ A PRODUKCE BIOPOTRAVIN V ČESKÉ REPUBLICE NA POČÁTKU ROKU 2002

Prugar J.[1], Davídek J.[2]
1-Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6
2-Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Předpokládá se, že zájem o ekologické formy zemědělské výroby bude nadále v našem státě narůstat. Podle současných trendů by v průběhu příštích cca deseti let mohly ekologicky obhospodařované pozemky činit až 15 % z celkové výměry. V roce 2001 také rozvinula svou činnost první odbytová biodružstva jako nové, velmi potřebné subjekty v tomto úseku zemědělství.
Poptávka po biopotravinách i možnosti jejich exportu vede v ČR k současnému převisu poptávky nad nabídkou. Týká se to zejména zeleniny, ovoce, luštěnin, potravinářské pšenice, brambor, mléka a mléčných výrobků, vepřového a drůbežího masa a vajec. Nedostatečná je i produkce léčivých a kořeninových rostlin, zcela chybí domácí výroba cukru, jedlých olejů, sušené zeleniny a ovoce a masných produktů. Bylo by dobře, kdyby se tyto skutečnosti co nejdříve promítly do reálné dotační politiky státu. Od roku 1998 je jak známo, rozvoj ekologického zemědělství v ČR podporován v rámci programu podpory mimoprodukčních funkcí zemědělství, jakož i programů podporujících méně příznivé oblasti a aktivity podílející se na udržování krajiny. Je to plně v souladu s dlouhodobými agroenviromentálními programy EU.
Referát přináší informace o aktuálním stavu českého ekologického zemědělství a produkce biopotravin.

Struktura ploch, na kterých se hospodaří systémem ekologického zemědělství

Vývoj výměry zemědělské půdy v ekologickém zemědělství ČR			
Rok	**Počet kontrolovaných podniků celkem**	**Výměra zemědělské půdy v EZ v ha**	**Procentický podíl ze zem. půdního fondu**
1990	3	480	-
1991	132	17 507	0,41
1992	135	15 371	0,36
1993	141	15 667	0,37
1994	187	15 818	0,37
1995	181	14 982	0,35
1996	182	17 022	0,40
1997	211	20 239	0,47
1998	348	71 621	1,67
1999	473	110 756	2,58
2000	563	165 699	3,86
2001	**654**	**218 114**	**5,09**

Struktura půdního fondu v ekologickém zemědělství ČR		
Plochy	**rok 2001 / výměra v ha**	**Podíl v %**
Orná půda	19 164	8,79
TTP	195 633	89,69
Trvalé kultury (sady,vinice)	963	0,44
Ostatní plochy	2 354	1,08
Celkem	**218 114**	**100**

Vývoj struktury půdního fondu v ekologickém zemědělství ČR			
Plochy	**rok 2000/výměra v ha**	**rok 2001/výměra v ha**	**Meziroční nárůst v %**
Orná půda	15 295	19 164	25,30
TTP	149 705	195 633	30,68
Trvalé kultury (sady,vinice)	462	963	108,54
Ostatní plochy	237	2 354	893,16
Celkem	**165 699**	**218 114**	**31,63**

Přehled registrovaných pozemků a pozemků v přechodném období podle kultur					
	Orná půda	**TTP**	**Trvalé kultury**	**Ostatní pozemky**	**Celkem**
Registrované pozemky	12 270,5405	139 332,0517	349,3393	560,2685	152 512,2000
Pozemky v přechod.obd.	6 893,7296	56 300,8146	614,1100	1 793,5725	65 602,2267
Celkem	**19 164,2701**	**195 632,8663**	**963,4493**	**2353,8410**	**218 114,4267**

Přehled ekologických podnikatelů

Podnikatelské subjekty podle předmětu činnosti	
Struktura	**Počet**
Ekologičtí podnikatelé, žadatelé o registraci	654
Výrobci biopotravin (včetně vlastní distribuční činnosti)	75
Osoby uvádějící biopotraviny a bioprodukty do oběhu	49
Celkem podniků	**779**

ČUČORIEDKY - ZDROJ ANTIOXIDANTOV

Máriássyová M.
Výskumný ústav potravinársky Bratislava, pracovisko Biocentrum, Kostolná 7, 900 01 Modra
E-mail: vup-bc.modra@ba.telecom.sk

Súhrn

Práca je zameraná na sledovanie zmien obsahu antioxidantov a ďalších biologicky aktívnych látok v rôznych odrodách čučoriedok počas technologických operácií. Boli sledované korelačné závislosti medzi antioxidačnou účinnosťou, obsahom polyfenolov a antokyanínov v jednotlivých odrodách.

Čučoriedka veľkoplodá (Vaccinium corymbosum L.) známa aj pod názvami čučoriedka kanadská, čučoriedka chocholíkatá a i., patrí do čelade brusnicovitých (Vacciniaceae). Pochádza zo Severnej Ameriky, v Európe sa pestuje najmä v Poľsku, Nemecku a Holandsku. Na Slovensku sú väčšie výsadby v Krivej na Orave, v PD Smrečany a PD Východná.
Čučoriedky majú vysokú biologickú a dietetickú hodnotu. Obsahujú organické kyseliny, najmä kyselinu citrónovú, askorbovú a malónovú [1-5], pektíny s vysokým stupňom metylesterifikácie[4], cukry [3-7], vitamín C [1, 2], minerálne látky. Plody vynikajú vysokým obsahom červených antokyánových farbív [1, 7-11] a flavonoidov všeobecne [1, 8, 10-12]. Čučoriedka veľkoplodá obsahuje široké spektrum antokyánových farbív. Najviac zastúpené sú glykozidy malvidínu, delfinidínu, kyanidínu, peonidínu a petunidínu. Ako cukorná zložka je v polohe tri viazaná glukóza, galaktóza alebo arabinóza [7-10]. Antokyaníny a flavonoidné látky čučoriedok majú antioxidačnú a antiradikálovú aktivitu [1, 11-14].

Metódy a materiál

Plody čučoriedok sme získali z Výskumnej stanice VÚTPHP Krivá na Orave. Zberané boli koncom augusta.
Na stanovenie antiradikálovej aktivity šťavy získanej z jednotlivých odrôd čučoriedok sme použili reakciu so stabilným radikálom 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylom (DPPH°) v metanolickom roztoku. Redukcia DPPH° sa prejavuje znížením absorbancie pri 515 nm [15, 16]. Pokles absorbancie sa zaznamenával každých 5 s až do dosiahnutia reakčnej rovnováhy na spektrofotometri Shimadzu 1601 UV-VIS.
Účinnosť rastlinných štiav a extraktov ako lapačov radikálov sa vypočíta na základe vzťahu [17] :

$$\% \text{ inhibície} = [(A_{CO} - A_{At}) / A_{CO}] \times 100$$

kde A_{CO} je absorbancia kontroly v čase t= 0 min (roztok DPPH°)
A_{At} je absorbancia v prítomnosti antioxidantu v čase t min.

Interpoláciou krivky závislosti koncentrácia antokyánov - % inhibície v rovnovážnom stave sa získa hodnota EC_{50} - koncentrácia Ac potrebná na zníženie absorbancie roztoku DPPH o 50%.
V čerstvých a tepelne upravených plodoch sme sledovali obsah antokyánových farbív (Ac), redukujúcich cukrov, kyselín a polyfenolov. Antokyány sme stanovili modifikovanou metódou Fulekiho a Francisa [18], obsah cukrov a kyselín podľa STN 56 0240 a polyfenoly fotometricky s činidlom Folin-Ciocalteau [19].

Výsledky a diskusia

Chemické zloženie jednotlivých odrôd čučoriedok je zhrnuté v tabuľke 1. Obsah antokyánových farbív je v rozmedzí 1,66 až 3,10 g/kg, obsah polyfenolov kolíše v rozmedzí 2,96 až 4,25 g/kg.

Tab. 1 Zloženie rôznych odrôd čučoriedok

odroda	antokyány ($g.kg^{-1}$)	cukry ($g.kg^{-1}$)	polyfenoly ($g.kg^{-1}$)	kyseliny ($g.kg^{-1}$)	sušina (%)
Blueray	1,66	127,4	2,56	1,76	16,15
Pemberton	3,05	124,1	4,25	2,72	18,30
Bluecrop	1,76	122,4	2,85	2,48	16,90
Berkeley	2,27	70,6	2,41	2,94	15,30
Jersey	2,71	111,3	3,54	3,47	17,40
Herbert	1,46	96,5	2,90	5,68	13,30

Ako lapače radikálov sa uplatňujú najmä flavonoidné zlúčeniny - antokyaníny, polyfenoly a rôzne fenolické kyseliny, najmä deriváty kyseliny škoricovej. Na stanovenie antiradikálovej aktivity sme použili metódu DPPH. V tabuľke 2 sú zhrnuté výsledky antiradikálovej aktivity. Najvyššiu účinnosť, t. j. najnižšiu hodnotu EC_{50}, sme zaznamenali u odrody Pemberton, ktorá má aj najvyšší obsah antokyánových farbív (Ac) a polyfenolov.
Počas tepelného záhrevu (15 min. pri 85 °C) pri konzervovaní čučoriedok dochádza k stratám antokyánov aj polyfenolov (Tab. 2), čo sa prejavilo predĺžením doby potrebnej na dosiahnutie 50 % inhibície.

Tab. 2 Antiradikálová aktivita odrôd čučoriedok

odroda	EC_{50} (mg/l)	obsah Ac+polyfenoly	obsah Ac+polyfenoly	čas potrebný na 50% inhibíciu (s)	
	pred úpravou	pred úpravou	po úprave	pre úpravou	po úprave
Blueray	20,8	4,22	3,86	220	270
Pemberton	16,0	7,30	6,52	17	28
Bluecrop	20,1	4,51	4,16	112	125
Berkeley	21,0	4,68	5,25	68	85
Jersey	18,7	6,25	5,64	38	47
Herbert	21,5	4,36	3,51	267	325

Regresnou analýzou sme získali vzťahy medzi obsahom antokyanínov, polyfenolov, resp. ich sumy vo vzťahu k EC_{50}. Korelačný koeficient medzi EC_{50} (r = 0,9339) a obsahom polyfenolov je vyšší ako medzi EC_{50} a obsahom antokyánov (r =0,93518). Najvyššia korelácia je medzi sumou obsahu antokyánov a polyfenolov vo vzťahu k EC_{50} (r = 0,9484).

Literatúra

1. Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., Prior, R. L.: Journal of Agricultural and Food Chemistry 47, 1999, č. 11, s. 4638-4644.
2. Haffner, K., Vestrhein, S., Gronnerod, K.: Erwebs Obstbau, 40, 1999, č. 4, s. 112-116.
3. Kalt, W., McDonald, J. E.: Journal of the American Society for Horticultural Science 121, 1996, č. 1, s. 142-146.
4. Kader, F., Rovel, B., Girardin, M., Metche, M.: Food Chemistry, 55, 1996, č. 1, s. 35-40.
5. Ehlenfeldt, M. K., Meredith, F. I., Ballington, J. R.: HortScience, 29, 1994, č. 4, s. 321 - 323.
6. Kader, F., Rovel, B., Metche, M.: Lebensmittel Wissenschaft und technologie, 26, 1993, č. 6, s. 593-595.
7. Sapers, G. M., Jones, S., Philips, J. G.: Journal of Food Science, 50, 1985, č. 2, s. 432-436.
8. Skrede, G., Wrolstad, R. E., Durst, R. W.: Journal of Food Science, 65, 2000, č. 2, s. 357-364.
9. Ballinger, W. E., Maness, E. P., Kushman, L.: Journal of the American Society for Horticultural Science, 95, 1970, č. 3, s. 283-285.
10. Ballington, J. R., Ballinger, W. E., Maness, E. P.: Journal of the American Society for Horticultural Science, 112, 1987, č. 5, s. 859-864.
11. Prior, R. L., Cao, G., Martin, A.: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 1998, č. 7, s. 2686-2693.
12. Smith M. A., Marley, K. A., Seigler, D.: Journal of Food Science, 65, 2000, č. 2, s. 352-356.
13. Wang, S. Y., Hongjun, J.: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 2000, č. 11, s. 5677-5684.
14. Fukumoto, L. R., Mazza, G.:Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 2000, č. 8, s. 3597-3604.
15. Brand-Wiliams W., Cuvelier, M.E., Berset, C.: Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 28, 1995, s. 25-30.
16. Larrauri, J.A., Sánchez-Moreno, C.: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 1998, s. 2694-2697.
17. Gadow, A., Joubert, E., Hansmann,Ch.: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 1997, s. 632-638.
18. Fuleki, T., Francis, F.: Quantitative methods for anthocyanins. Journal of Food Science, 33, 1968, č. , s. 78-83.
19. Minárik, E., Navara, A.: Chémia a mikrobiológia vína, Bratislava, 1986, s. 255.

ANTIOXIDAČNÍ A ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI RESVERATROLU

Filip V.[1], Plocková M.[1], Šmidrkal J.[1], Melzoch K.[2], Schmidt Š.[3]
1-Ústav technologie mléka a tuků, VŠCHT v Praze, Technická 3 166 28 Praha 6
2-Ústav kvasné chemie a bionženýrství, VŠCHT v Praze, Technická 5 166 28 Praha 6
3-Katedra potravinárskej technológie, STU Bratislava, Radlinského 7, Bratislava

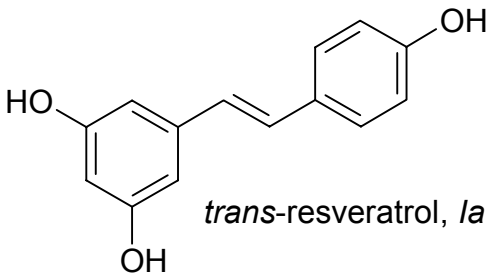
Souhrn: *trans*-resveratrol má velmi omezenou rozpustnost ve vodě, zvyšuje se až při konc.ethanolu nad 20 %. Působí jako slabý antioxidant při oxidaci triglyceridů slunčnicového oleje a nedosahuje účinnosti kys.askorbové při oxidaci lipidů margarinové emulze. *In vitro* působí jako inhibiční látka při růstu mikroskopických hub.

Úvod:

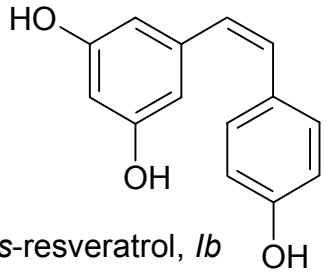
Zájem o sledování výskytu resveratrolu byl podmíněn existencí tzv. „francouzského paradoxu“[1,2]. Bylo zjištěno a statisticky dokázáno, že v určitých částech Francie byla nižší četnost úmrtnosti na onemocnění koronárních tepen i přes poměrně vysokou spotřebu tuků. Konzumace vína byla jedním z faktorů, kterým bylo možno vysvětlit nízkou úmrtnost na onemocnění věnčitých tepen. Tato skutečnost vedla k domněnce, že požívání vína může působit proti účinkům diety s vysokým obsahem tuků a omezit tak možnost vzniku a rozsah onemocnění věnčitých tepen. V současnosti době řada pracovišť testuje biologické vlastnosti resveratrolu, od antioxidačních vlastností[3] a vlivu na aterosklerosu a kardiovaskulární choroby [4-7] až po antimutagenní efekt[8] a chemoprevenci[9] před nádorovým onemocněním. V řadě případů bylo dosaženo pozoruhodných výsledků.

Komplexnější poznatky o resveratrolu byly získány v osmdesátých letech, díky pokroku v rozvoji instrumentální analýzy, zejména HPLC, což umožnilo sledování jeho výskytu a koncentrace ve vinné révě - *Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*)[10-11]. Následně byly zkoumány biologické vlastnosti resveratrolu a v řadě studií bylo prokázáno, že resveratrol, jako polyfenol přírodního původu je biologicky aktivní, má výrazné antioxidační vlastnosti a zháší volné radikály. Obecně platí, že rostlinné polyfenoly jako sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi inhibují zhoubné nádorové bujení. Kromě toho je resveratrol patrně jednou z hlavních složek rostlinných extraktů, které jsou využívány v orientální medicíně k léčení srdečních a nádorových onemocnění.

Resveratrol (triviální název) je svou strukturou 3,4´,5-trihydroxystilben (*I*). Z jeho struktury je zřejmé, že mohou existovat dva geometrické isomery, *trans- Ia* a *cis- Ib*. V rostlinném materiálu se obvykle vyskytuje směs obou isomerů, většinou převažuje *trans*-isomer. Resveratrol se vyskytuje rovněž ve formě glukosidů[1] - triviální název piceid.



trans-resveratrol, *Ia*



cis-resveratrol, *Ib*

Dále jsou v rostlinném materiálu přítomny oligomery (dehydrooligomery) resveratrolu tzv. konstitutivní stilbeny[1],dimer resveratrolu ε-viniferin a trimer α-viniferin.

Z hlediska funkcí v rostlině se resveratol řadí mezi fytoalexiny, což jsou sekundární metabolity rostlin, které se začnou tvořit de novo nebo ve zvýšené míře jako odpověď na stres nebo po napadení rostliny nepathogenními nebo avirulentními bakteriemi, viry či houbami.

Při napadení révy vinné plísněmi (např. *Botrytis cinerea* či *Plasmospara viticola*)[10-11,12] se začnou rychle tvořit a akumulovat fytoalexiny, maximální koncentrace *trans*-resveratrolu je dosaženo po 24-96 h od expozice, poté jeho koncentrace klesá a cca po 16 dnech se ustálí na původním stavu.

Hlavní překážkou při zkoumání vlastností resveratolu byla jeho nedostupnost, resp. nízké koncentrace v přírodních materiálech a velmi vysoká cena čisté látky – 20.000,-Kč.g^{-1}, která je v nabídce teprve poslední tři roky. Kolektiv využil při sledování vybraných fyzikálně-chemických a antimikrobiálních vlastností skutečnosti, že modifikovanou Wittigovu syntézu *trans*-resveratolu provedl u nás Doc.Jan Šmidrkal již v 80.letech, a tudíž množství látky nebylo limitujícím faktorem.

Materiál a metody:

Trans-resveratrol: připraven modifikovanou Wittigovu-Hornerovu syntézou[13].

1. Byla stanovena rozpustnost *trans*-resveratrolu v soustavě voda-ethanol (0 - 40 % ethanolu) v intervalu teplot 0 - 60°C. Koncentrace rozpuštěného resveratrolu byla měřena spektrofotometricky v UV při 300 nm oblasti na základě kalibrační křivky.
2. Testování *trans*-resveratrolu jako antioxidantu ve slunečnicovém oleji: antioxidační vlastnosti *trans*-resveratrolu jako fenolického antioxidantu byly testovány za modelových podmínek a paralelně bylo provedeno porovnání s nejběžnějším fenolickým antioxidantem, butylhydroxytoluenem (tj. 2,6-di-*terc*-butyl-4-methylfenolem) a dále ještě s askorbylpalmitátem (Apa). Antioxidanty byly testovány na přístroji Oxidograph při teplotě 110 °C, z křivky poklesu tlaku kyslíku v čase byla odečtena hodnota indukční periody v hodinách.
3. Testování *trans*-resveratrolu jako antioxidantu v modelové emulzi margarinového typu v/o při 15 °C po dobu 13 týdnů: koncentrace tukové násady 70 %, vodnou fází byla destilovaná voda s pH upraveným na hodnotu 4 kyselinou mléčnou. Jako srovnávací látka byla použita kyselina askorbová.
4. Inhibice růstu mikroskopických hub působením *trans*-resveratrolu v tekutém médiu: Ke zjištění inhibice růstu plísní rodů *Penicillium, Aspergillus, Botrytis* a kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* v tekutém médiu byla použita metoda podle Kima[14] se dvěma koncentracemi resveratrolu 11 a 22 mg.l^{-1}.

Výsledky a diskuse:

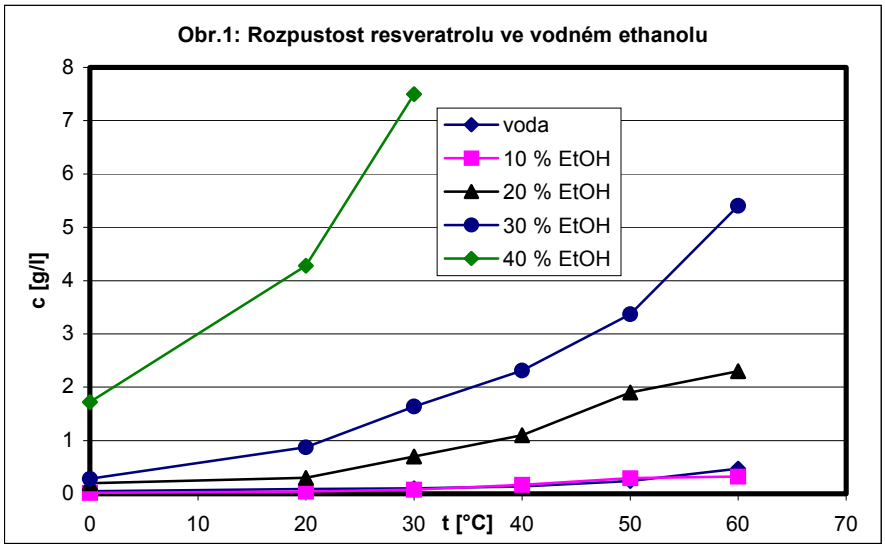
1.Rozpustnost *trans*-resveratrolu ve vodě je velmi nízká, 9 mg.l^{-1} (20 °C), při koncentraci ethanolu 10 % v/v je 40 mg.l^{-1} (20 °C).

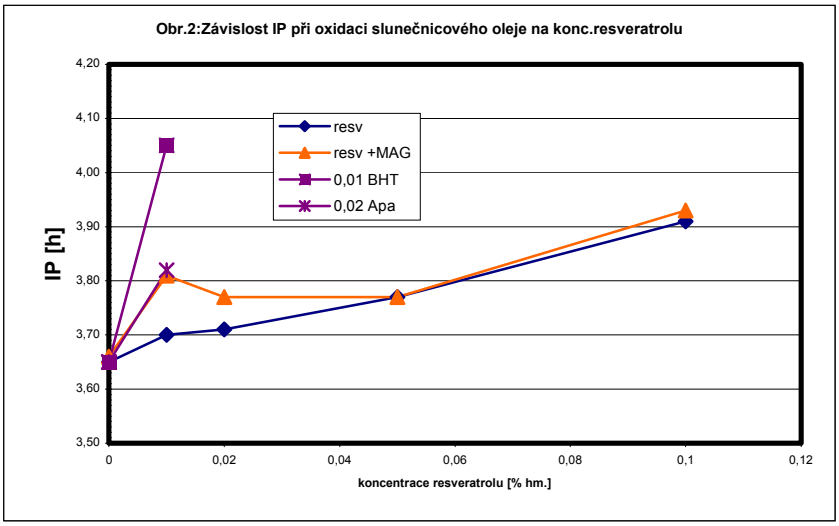
Z výsledků závislosti rozpustnosti na teplotě (Obr.1) vyplývá, že hlavním parametrem ovlivňujícím rozpustnost *trans*-resveratrolu je vzrůstající koncentrace ethanolu (nad 20 %).

Ze získaných dat vyplývá, že rozpustnost *trans*-resveratrolu ve víně není limitována hodnotami rozpustnosti (obsah resveratrolu ve víně je obvykle max. do 10 mg.l^{-1}).

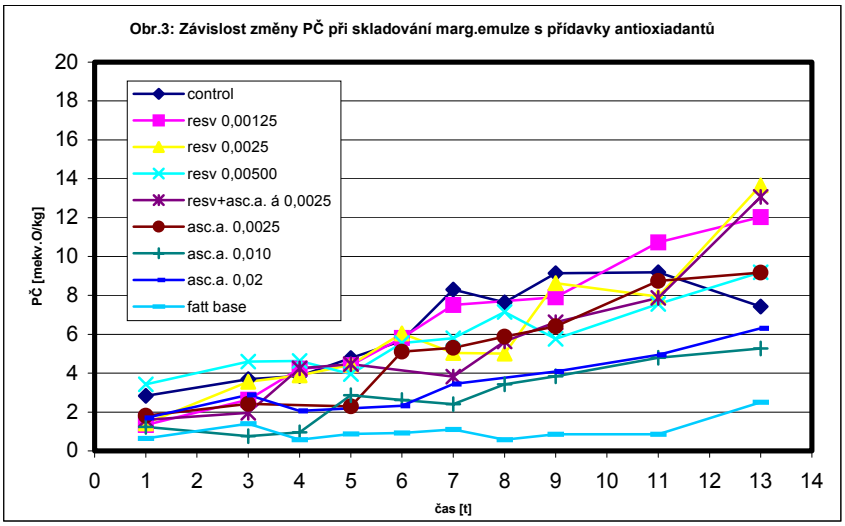
2. Testování *trans*-resveratrolu jako antioxidantu ve slunečnicovém oleji:

Trans-resveratrol vykazuje při oxidaci mastných kyselin slunečnicového (Obr.2) oleje v koncentracích 0,01–0,10 % w/w. malou antioxidační účinnost, což lze vysvětlit tím, že *trans*-resveratrol, jako poměrně polární sloučenina je v rostlinném oleji prakticky nerozpustný, účinnost zvyšuje monoglyceridový emulgátor. V systému lipidů slunečnicového oleje je nejúčinnějším antioxidantem butylhydroxytoluen, nižší antioxidační efekt má askorbylpalmitát a resveratrol, jejichž účinnost je při koncentraci 0,01 % hm. srovnatelná. Naopak pro řepkový olej je nejúčinnějším antioxidantem askorbylpalmitát, a srovnatelná je při koncentraci 0,01 % je antioxidační účinnost resveratrolu a butylhydroxytoluenu.





3. Testování *trans*-resveratrolu jako antioxidantu v modelové emulzi margarinového typu:



Při teplotě 15 °C (skladovací teplota margarinu) je rozpustnost *trans*-resveratrolu ve vodě limitujícím faktorem. Koncentrace byly proto voleny v konc. rozmezí 0,001–0,005 % w/w, jako srovnávací látka byla použita kyselina askorbová., která významně snižuje koncentraci

hydroperoxidů po celé sledované období. Při koncentraci 0,01 % nepřesáhla hodnota peroxidového čísla hodnotu 6 mmol O/kg). Ve srovnání s kyselinou askorbovou vykazuje i v tomto systému *trans*-resveratrol při max. možné koncentraci 0,005 % malou účinnost. Rozdíly snížení peroxidového čísla o 2–3 mmol O/kg se projevují až ve druhé polovině doby skladování. Podobný účinek má směs kyseliny askorbové (0,0025 %) a *trans*-resveratrolu (0,0025 %).

4. Inhibice růstu mikroskopických hub a kvasinky působením *trans*-resveratrolu v tekutém médiu (Tab.I): U kvasinky *S.cerevisiae* byla zjištěna nejvýraznější inhibice při koncentraci 11 $mg.l^{-1}$ ze všech testovaných MO, vyšší dávka 22 $mg.l^{-1}$ byla příčinou výrazně nižší inhibice. Ze tří sledovaných plísní byl nejvýrazněji inhibován *Aspergillus niger, Penicillium expansum* bylo vůči působení resveratrolu odolnější. Výsledky zjištěné pro plíseň *Botritis cinerea* nebyly věrohodné (daná plíseň nevykazovala sama uspokojivý růst v použitém médiu). Lze konstatovat, že s ohledem na chybu použité metody, byly prokázány inhibiční účinky *trans*-resveratrolu na na růst kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* „Scherry“ a plísní *Penicillium expansum* DMF 004 a *Aspergillus niger* DMF 0801 v tekutém médiu.

Tab.I: % inhibice růstu mikroskopických hub v tekutém médiu

Testovaný mikroorganismus	Koncentrace *trans*-resveratrolu [$mg . l^{-1}$]	
	11	22
S.cerevisiae	57,2	18,3
P.expansum	16,1	21,6
A.niger	36,4	55,8

Litaratura:

1. Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M.: Clin.Biochem. *30*, 91(1997).
2. Soleas G.J., Diamandis E.P., Goldberg D.M.: J. Clin. Lab. Anal.: *11*, 287 (1997).
3. Kimura Y., Ohminami H., Okuda H., Baba K., Kozawa K., Arichi S.: J.Med. Plant. Res. *49*, 51 (1983).
4. Arichi S., Kimura Y., Okuda H., Baba K., Kozawa M., Arichi S.: Chem. Pharm.Bull. *30*, 1766 (1982).
5. Frankel E.N., Waterhouse A.L., Teissedre P.L.: J.Agric. Food Chem. *43*, 890 (1995).
6. Pace-Asciak C.R., Hahn S., Diamandis E.P., Soleas G., Goldberg D.M.: Clin.Chim. Acta *235*, 207 (1995).
7. Pace-Asciak C.R., Rounova O., Hahn S.E., Diamandis E.P., Goldberg D.M.: Clin.Chim. Acta *246*, 163 (1996).
8. Uenobe F., Nakamura S., Miyazawa M.: Mutat.Res. 373, 197 (1997).
9. Jang M., Cai L., Udeani G.O., Slowing K.V., Thomas C.F., Beecher C.W.W., Fong H.H.S., Farnsworth N.R., Kinghorn A.D., Mehta R.G., Moon R.C., Pezzuto J.M.: Science *275*, 218 (1997).
10. Langcake P., Pryce R.J.: Physiol.Plant.Pathol. *9*, 77 (1976).
11. Langcake P., Cornford C.A., Pryce R.J.: Phytohemistry *18*, 1025 (1979).
12. Langcake P., McCarthy W.V.: Vitis *18*, 244 (1979).
13. Šmidrkal J., Filip V., Melzoch K., Hanzlíková I., Buckiová D., Drašar P.: Chem. Listy *93*, 727 (1999).
14. Kim J., Lee Y., Roh W.: J of Food Prot. 63, 1295 (2000).

Projekt podpořen grantem GAČR: 525/99/1338.

ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA PRODUKTŮ MAILLARDOVY REAKCE

Cejpek K., Pavlíková L., Réblová Z., Velíšek J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 1905, 166 28 Praha 6

Úvod

Přirozeně se vyskytující látky s antioxidačním účinkem mohou být alternativou k fenolickým sloučeninám, jejichž použití je někdy spojováno s potenciálními riziky (Velíšek, 1999). Nespornou antioxidační aktivitu vykazuje i řada produktů reakce redukujících sacharidů s aminosloučeninami. O chemické podstatě antioxidačních vlastností produktů Maillardovy reakce není doposud známo mnoho vzhledem k extrémní složitosti těchto reakčních směsí, obtížné isolaci aktivních látek a nedostatku informací o struktuře melanoidinů a dalších Maillardových produktů. Při antioxidačním účinku se pravděpodobně uplatňují sloučeniny s reduktonovými, aminoreduktonovými nebo pyrrolovými strukturami redukující produkty autooxidace nebo vychytávající kyslík, další struktury eliminující volné radikály a látky schopné vázat kovové ionty, které působí jako katalyzátory oxidace (Velíšek, 1999).

Mezi rozhodující faktory ovlivňující antioxidační aktivitu produktů Maillardovy reakce patří charakter reagujících látek (Cämmerer et al., 1999). Produkty karamelizace (reakce samotných cukrů) nevykazují žádnou nebo jen zanedbatelnou antioxidační aktivitu. Ke vzniku produktů s antioxidačními vlastnostmi je nutná účast aminosloučeniny. Nejvyšší antioxidační aktivitu pak vykazují sloučeniny vznikající z degradačních produktů cukrů (hlavně z dikarbonylových fragmentů). Méně účinné jsou produkty reakcí pentos a ještě nižší aktivitu vykazují produkty reakcí hexos. Z glukosy se tvoří v reakčních směsích produkty s vyšší antioxidační aktivitou než z fruktosy. S rostoucím stupněm polymerace sacharidů pak antioxidační účinnost produktů klesá. V některých systémech (zvláště v reakčních směsích s ribosou) převažují produkty s prooxidační aktivitou (Reische a Lillard, 1996). Produkty bazických aminokyselin (argininu, lysinu, tryptofanu a histidinu) vykazují po reakci s cukry vyšší antioxidační aktivitu než neutrální a kyselé aminokyseliny. Korelace mezi antioxidační aktivitou a obsahem dusíku v molekule melanoidinů prokázána nebyla (Lee et al., 1992).

Reakční podmínky mají klíčový vliv na vznik cílových produktů s antioxidačními vlastnostmi. Většina zdrojů uvádí, že vyšší počáteční pH reakční směsi indukuje tvorbu melanoidinů s výraznějšími antioxidačními vlastnostmi (Namiki, 1988; Eiserich et al., 1992). Prostředí s nižší aktivitou vody představuje obecně lepší podmínku pro vznik melanoidinů s antioxidační aktivitou než prostředí vodné (Namiki, 1988). Antioxidační aktivita produktů roste s rostoucí teplotou a dobou reakce, a to do určitého optima (Monti et al., 1997). Dočasné snížení antioxidační aktivity pozorované v modelových systémech je způsobeno zřejmě vznikem volných radikálů ve velmi raném stadiu Maillardovy reakce ještě před Amadoriho přesmykem (Hayashi a Namiki, 1985), případně přítomností jiných prooxidantů. Při posuzování antioxidační aktivity v potravinách je třeba navíc v důsledku tepelné expozice počítat s úbytkem přirozených antioxidantů (askorbové kyseliny, polyfenolů). Proto je pro dosažení určité antioxidační aktivity v potravinách třeba dostatečné dlouhé doby záhřevu při dostatečně vysokých teplotách, aby tepelně indukované Maillardovy produkty tyto ztráty eliminovaly a překonaly (Anese et al., 1999).

Pro určení antioxidační aktivity se používá řada metod. Patří mezi ně metody nepřímé, založené na měření rychlosti (stupně) oxidace lipidů, s kterými jsou antioxidanty v kontaktu, a metody přímé, které představují např. určení redoxního potenciálu a účinnosti zhášení radikálů. Nepřímé metody zahrnují měření peroxidového čísla, hydroperoxidů konjugovaných dienů, polymerů a sekundárních těkavých produktů (např. jako látek reagujících s 2-thiobarbiturovou kyselinou), ale také měření chemiluminescence a fluorescence (Anese, 1999). Údaje o antioxidační aktivitě látek v systému a zároveň informace o mechanismu účinku lze získat použitím přímých metod, založených na schopnosti molekul antioxidantů zachycovat nebo zhášet kyslík a radikálové částice. Používají se především spektrofotometrické metody založené na reakci antioxidantů s aniontem superoxidového radikálu, stabilními radikály (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylový radikál, DPPH•) nebo peroxylovými radikály generovanými diazosloučeninami (Tubaro et al., 1996). Využívány jsou i metody elektronové paramagnetické rezonance (EPR), např. pro detekci stabilních volných radikálů v melanoidinech.

Antioxidační účinek většiny antioxidantů je založen na oxidačně-redukčních reakcích, ve kterých dochází k transferu elektronů z oxidující se sloučeniny (antioxidantu) na látky jiné, ať už jsou to radikálové struktury, hydroperoxidy nebo jiné organické sloučeniny. Proto u látek, které se oxidují při vloženém napětí na pracovní elektrodě v elektrochemickém článku, tj. jsou elektrochemicky aktivní, lze předpokládat jistý antioxidační účinek. O tom, zda elektrochemicky aktivní látka má skutečně antioxidační aktivitu, rozhoduje kromě jiných faktorů hodnota půlvlnového oxidačního potenciálu. Bylo zjištěno (Miškusová, 2000), že

látky s půlvlnovým oxidačním potenciálem vyšším než + 0,75 V antioxidační aktivitu nevykazují, neboť např. radikály lipidů s nimi již nereagují.

Experimentální práce byla zaměřena na studium elektrochemické aktivity (tj. redukčních schopností) zahřívaných modelových binárních reakčních směsí obsahujících alifatickou aminokyselinu a významný produkt degradace sacharidů glyoxal. Byla zjištěna distribuce redukujících látek ve frakcích definovaných rozpustností, polaritou a velikostí molekul produktů. Sledovány byly také vztahy mezi elektrochemickou aktivitou, antioxidační účinností a intenzitou zbarvení reakčních směsí a jejich frakcí.

Experimentální část

Modelové systémy. Vodné binární ekvimolární 0,5 M směsi glyoxalu (Glx) nebo glukosy (Glc) a alifatické aminokyseliny - glycinu (Gly), valinu (Val), leucinu (Leu) nebo isoleucinu (Ile) byly zahřívány 10 min až 40 h v uzavřeném systému při 95 °C.

Frakcionace. Reakční systémy, pokud obsahovaly sraženinu, byly přefiltrovány (0,45 μm) a roztok byl vysrážen trojnásobným objemem MeOH:Et_2O (3:2, v/v). Po odstranění organických rozpouštědel byl filtrát ultrafiltrován (1000 Da). Nízkomolekulární podíl byl extrahován Et_2O, extrakt byl vysušen, zahuštěn a převeden do mobilní fáze HPLC. Nefrakcionované reakční systémy a frakce nerozpustných pigmentů byly bezprostředně před analýzou rozpuštěny v pufru o pH 10.

HPLC analýzy. Reakční systémy a frakce byly separovány (DeltaPak C_{18}, 150 × 3,9 mm × 5 μm s předkolonou) binární gradientovou elucí (fosfátový pufr pH 6,5 / MeCN s 5 mM NaCl (pro ECD) nebo voda / MeCN (pro PDA)), f = 0,7 ml/min) s UV detektorem (SpectroMonitor 3200, TSP), elektrochemickým detektorem (ECD, HP 1049A, Hewlett-Packard) nebo detektorem fotodiodového pole (PDA, 996, Waters).

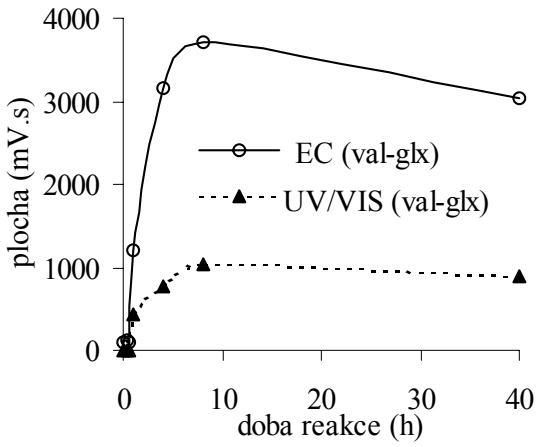
Měření antioxidační aktivity. Získané frakce byly rozpuštěny (dispergovány) ve vepřovém sádle. Příslušná nádobka byla umístěna do přístroje Oxipres s tlakem kyslíku 0,5 MPa a teplotou 100°C. Zaznamenána byla změna tlaku kyslíku, ze získané křivky byla odečtena indukční perioda (IP) a vypočten protekční faktor (PF).

UV/VIS spektrometrie. U získaných frakcí byla po zředění změřena absorbance při 420 nm (Cary 100 Bio, Varian).

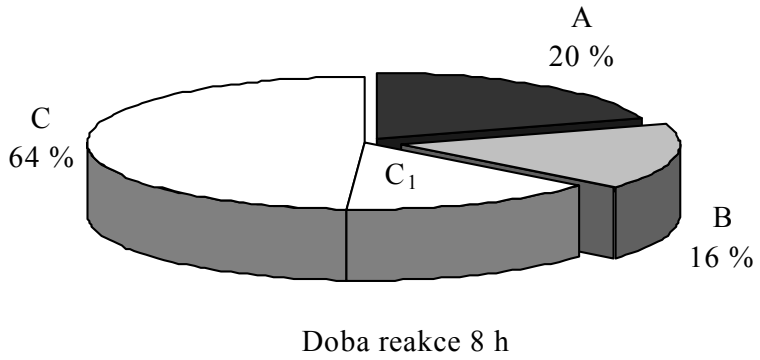
Výsledky a diskuse

Elektrochemická aktivita (EA) byla zjištěna u všech srovnávaných systémů i jejich frakcí, bez ohledu na charakter reaktantů. Vývoj redukční (elektrochemické) aktivity reakčních směsí s dobou zahřívání má u testovaných systémů esenciálních alifatických aminokyselin s glyoxalem podobný průběh jako u Val-Glx (Obr. 1). Byla zjištěna relativní elektrochemická účinnost (REA; mol/mol) reakčních směsí a frakcí vzhledem k BHA. Žádná z reakčních směsí nepřesahuje 2 % účinnosti BHA, rozdíly mezi jednotlivými glyoxalovými systémy (s Val, Leu, Ile nebo Gly) nejsou za podmínek experimentu významné.

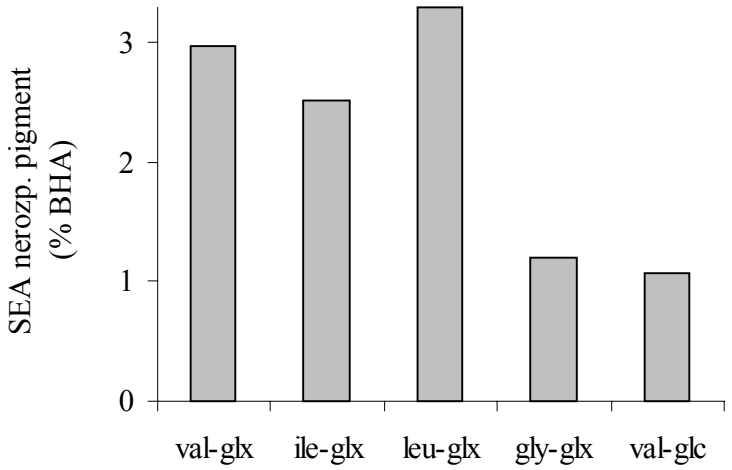
Uvádí se, že dikarbonylové fragmenty jsou aktivnější ve smyslu tvorby EA látek než cukry (Namiki, 1988), což souvisí s obecně pomalejší rychlostí tvorby produktů v přítomnosti redukujících sacharidů. V těchto systémech se totiž předpokládá převažující chování podle Hodgeova reakčního schématu, tedy transformace přes Amadoriho sloučeniny. Indukční perioda před vznikem finálních produktů (např. chromoforů) je potom ve srovnání se systémy karbonylových fragmentů, které reagují odlišnými mechanismy, mnohem delší (Cejpek a Velíšek, 2001). Zatímco redukční síla směsí Val-Glx a Ile-Glx dosahuje maxima kolem osmé hodiny reakce, pro systémy s Glc roste po celou dobu sledování experimentu a ve 40. h je již s glyoxalovými modely minimálně srovnatelná. Nejpomaleji probíhá vývoj elektrochemické aktivity u systému Gly-Glc. Intenzita barvy poměrně těsně koreluje s elektrochemickou aktivitou (Obr. 1), ovšem až po určité době reakce (u systémů s Glx už po druhé hodině). Zatímco u modelů s Glx se první barevné produkty začínají tvořit dříve než první redukující látky, u systémů s Glc k tomuto posunu nedochází.



Obrázek 1 Vývoj elektrochemické aktivity a zbarvení (Abs_{420}) systému Val-Glx v závislosti na době záhřevu.



Obrázek 2 Podíl jednotlivých frakcí Val-Glx na celkové redukční aktivitě
● A-nerozpustný podíl, ● B-látky > 1000 Da, ○ C- m. h. < 1000 Da, C_1-látky extrah. do Et_2O.



Obrázek 3 Porovnání redukční síly isolovaných melanoidinů z testovaných systémů (40 h).

Aplikací frakcionačního postupu bylo z reakčních směsí studovaných Maillardových systémů získáno několik frakcí, u kterých byla určena elektrochemická aktivita (např. Val-Glx, 8 h systém - Obr. 2). Těžiště elektrochemické aktivity modelových systémů aminokyselin a glyoxalu leží během prvních hodin zcela jednoznačně v nízkomolekulární frakci. S rostoucí dobou reakce přibývá produktů nerozpustných v médiu i vysokomolekulárních látek rozpustných, takže jejich podíl na elektrochemické aktivitě roste. Ve 40 hodinových systémech s glyoxalem s vysokým podílem nerozpustných látek je pak podíl produktů s m. h. > 1000 Da na EA přinejmenším shodný s podílem nízkomolekulárních produktů. Nerozpustné melanoidiny získané z různých systémů nebo po různě dlouhém zahřívání mají rozdílnou specifickou elektrochemickou aktivitu (SEA; vztaženo na hmotnost melanoidinů). Ta roste s dobou jejich přípravy. Prakticky srovnatelnou účinnost mají vysrážené melanoidiny z glyoxalových systémů s valinem, leucinem a isoleucinem, významně nižší je SEA nerozpustných pigmentů ze systému glyoxal-glycin i glukosových modelů (Obr. 3).
Kromě určení elektrochemické aktivity byla u vybraných reakčních směsí a jejich frakcí stanovena antioxidační aktivita (AOA) manometrickou metodou na přístroji Oxipres. Lze předpokládat pozitivní vztah mezi celkovým obsahem redukujících látek a antioxidační účinností (Cämmerer et al., 1999; Lee et al., 1992; Miškusová, 2000). Zjištěná závislost antioxidační účinnosti celkových reakčních směsí na čase zhruba kopíruje vývoj redukční kapacity až po několikahodinové reakci. Rozpustná frakce má totiž v počátečních hodinách prooxidační charakter daný (kromě pravděpodobné přítomnosti dalších prooxidantů) především koncentrací nezreagovaného glyoxalu. Ve vyšších reakčních časech pozorovaný antioxidační účinek je soustředěn v nízkomolekulární frakci v ještě větší míře než elektrochemická aktivita.
Aplikace separačního kroku (HPLC) ve spojení s elektrochemickou (voltametrickou) detekcí při detekčním potenciálu + 0,8 V dovoluje získat informace o konkrétních látkách vykazujících redukční schopnosti. Několik sloučenin s relativně intenzivní odezvou a zároveň dostatečně separovaných (HPLC) bylo z Et2O extraktů glyoxalových systémů s valinem a isoleucinem izolováno a spektrálně charakterizováno.

Reference

- Anese M., Manzocco L., Nicoli M. C. Lerici C. R., *J. Sci Food Agric.*, 79, 750-754 (1999).
- Cämmerer B. In *Melanoidins in Food and Health* (J. M. Ames, Ed.), Proceedings of COST Action 919 (1), OOPEC Luxembourg, 2001, pp. 49-61.
- Cejpek K., Velíšek J., In lecture held at COST Action 919 Meeting in Dresden, Oct. 5-6, 2001.
- Eiserich J. P., Macku C., Shibamoto T., *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1982-1988 (1992).
- Hayashi T., Namiki M., *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1965-1970 (1986).
- Lee M. J., Kim H. D., Park J. W., Kim D. S., *J. Korean Soc. Food Nutr.,* 21, 686-692 (1992).
- Miškusová M., *Diplomová práce*, VSCHT (2000).
- Monti S. M. *et al., J. Agric. Food Chem*., 47, 1506-1513 (1999).
- Namiki M., *Adv. Food Res.*, 32, 115-183 (1988).
- Reische D. W., Lillard D. A., *IFT Annual Meeting, Book of Abstracts* 1996, pp. 143.
- Tubaro F., Micossi E., Ursini F., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73(2), 173-179 (1996).
- Velíšek J., *Chemie potravin*, OSSIS, Tábor, (3), 1999, pp. 159-173.

RÝCHLE A SPOĽAHLIVÉ STANOVENIE KYSELINY ASKORBOVEJ V POTRAVINÁCH

Beinrohr E.[1], Dzurov J.[2], Helán V.[3]
1-Katedra analytickej chémie FCHPT STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
2-ISTRAN, s.r.o., Bratislava
3-2Theta ASE, s.r.o., Český Tešín

Na stanovenie fyziologicky dôležitých foriem kyseliny askorbovej prichádzajú do úvahy metódy fyzikálne, chemické a biologické. Z chemických metód je to oxidimetria, fotometria, z fyzikálnych spektrografia, polarografia, chromatografia a izotachoforéza. V poslednej dobe bola vyvinutá na stanovenie kyseliny askorbovej nová metóda - vnútroelektródová coulometrická titrácia. Táto elektroanalytická metóda sa uplatňuje právom nielen pre svoju relatívnu ekonomickú nenáročnosť v porovnaní s inými inštrumentálnymi metódami, ale aj preto, že dovoľuje stanoviť a sledovať priebeh chemických reakcií a vysvetľovať ich princípy.

Počítačom riadený prietokový analyzátor EcaFlow umožňuje kvantitatívnu oxidáciu kyseliny askorbovej prietokovej elektrochemickej cele pri konštantnom prúde pracovnej elektródy. Túto metódu vnútroelektródovej coulometrickej titrácie možno použiť na stanovenie oxidovateľných alebo redukovateľných látok vo vodných roztokoch. Pri používaní konštantného rozpúšťacieho prúdu možno pomocou Faradayovho zákona vypočítať množstvo rozpusteného, teda aj vylúčeného analytu vo vzorke (bezkalibračná metóda). Správnosť výsledkov možno overiť meraním vzorky s prídavkom štandardného roztoku. Pracovné elektródy používané pri týchto analýzach sú uhlíkové pórovité elektródy, ktorých objem sa určí analýzou štandardného roztoku kyseliny askorbovej.

Prístroje a zariadenia:
Electrochemický analyzátor *EcaFlow 150* (Istran, s.r.o., Bratislava) s peristaltickým čerpaním a automatickým dávkovaním roztokov. Trojelektródová prietoková elektrochemická cela typu 353b s pórovitými pracovnými elektródami E53C.
Elektrochemický analyzátor *C-Vit* (Istran, s.r.o., Bratislava) nastavený na meranie kyseliny askorbovej v elektrochemickej cele typu 353c. Použili sa pórovité pracovné elektródy E53C.

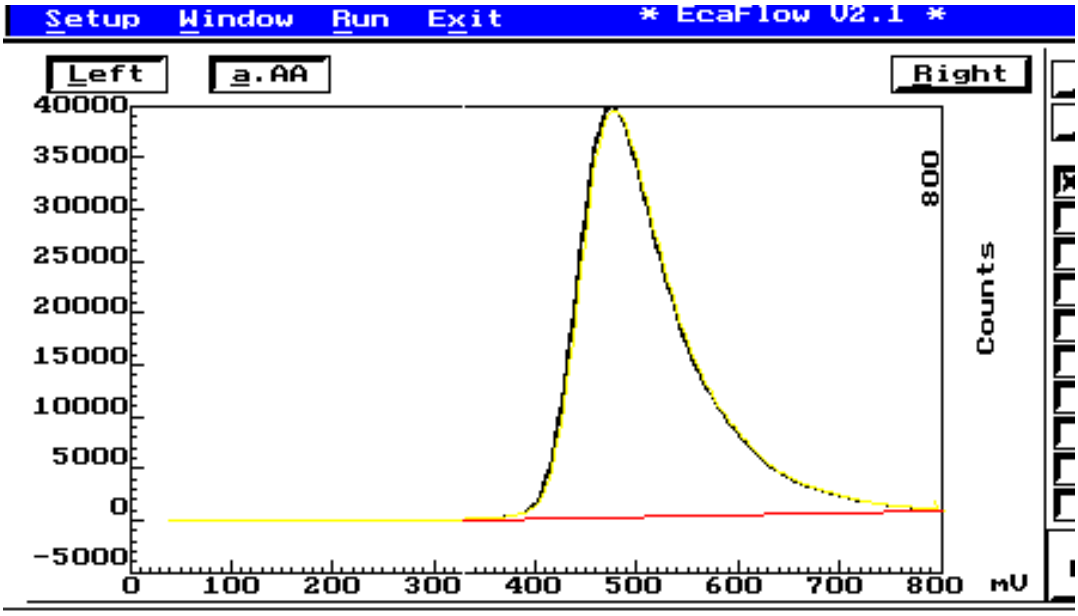
Roztoky:
Roztok základného elektrolytu R-020 (s obsahom kyseliny oxálovej na stabilizáciu kyseliny askorbovej)
Štandardný roztok kyseliny askorbovej v roztoku R-020: 10 mg/l (Štandardný roztok treba pripraviť každý deň čerstvý).

Príprava vzoriek:
Návažok vzorky 1 až 5 g sa premiešal alebo rozmixoval s 50 ml základného elektrolytu R-020. V prípade potreby sa vzniknutý roztok prefiltroval cez membránový filter s veľkosťou pórov 0,54 μm a číry roztok sa okamžite analyzoval.

Postup analýzy:
Prietokový analyzátor EcaFlow: Prístroj sa najprv kalibroval pomocou štandardného roztoku kyseliny askorbovej a potom sa odštartovalo meranie vzoriek. Analýzy prebiehali automaticky podľa zadaných parametrov v obslužnom programe.

Analyzátor C-Vit: Najprv sa vykonala kalibrácia prístroja pomocou štandardného roztoku kyseliny askorbovej: Štandardný roztok sa nasal do plastovej injekčnej striekačky, ktorá sa zasunula do dávkovacieho otvoru prístroja. Podľa príkazov na zobrazovači prístroja sa nainjektoval asi 1 ml roztoku do meracej cely a odštartovalo sa meranie. Po skončení kalibrácie sa rovnakým postupom analyzovali pripravené vzorky.

Záznam merania kyseliny askorbovej (100 mg/l):



Výsledky analýz

Označenie vzorky	*Nájdený obsah kyseliny askorbovej, mg/l, prípadne mg/kg*	*Referenčná hodnota nájdená titračne alebo izotachoforeticky, mg/l, prípadne mg/kg*
Džús Bingo	95	88 (titračne)
Džús Malina	149	132 (titračne)
Paprika	420	439 (ITP)
Petržlen	965	940 (ITP)
Šípky	2900	2350 (ITP)
Melón	265	-
CALIBRUM tabletky	89,5 mg/tabletka	76,6 mg/tabletka
CENTRUM tabletky	40,9 mg/tabletka	35,2 mg/tabletka
Práškové mlieko	650	610
Instantné kakao	550	520

Metrologické parametre:

Parameter	*Hodnota*
Detekčný limit	0,1 mg/l
Lineárny rozsah	0,2 - 10 000 mg/l
Presnosť	0.5 %
Opakovateľnosť (pre 10 mg/l)	1 %
Reprodukovateľnosť	1-2 %
Doba analýzy (*C-Vit*)	10 s
Doba analýzy (*EcaFlow*)	3 min

Záver

Prietoková coulometria v prevedení tzv. vnútroelektródovej coulometrickej titrácie je vhodnou metódou na stanovenie kyseliny askorbovej v rôznych druhoch vzoriek. Je to jednoduchá, rýchla a spoľahlivá metóda a možno ju využiť tak so štandardným elektrochemickým analyzátorom *EcaFlow* ako aj s novým jednoúčelovým analyzátorom *C-Vit*.

VLIV ODLIŠNÝCH NUTRIČNÍCH REŽIMŮ NA KVALITU HOVĚZÍHO MASA

Koucký M., Kudrna V.
Výzkumný ústav živočišné výroby, Přátelství 815, 104 00 Praha 10 - Uhříněves

Byl řešen výzkumný projekt, jehož těžiště spočívalo na využití sušených vyslazených cukrovarských řízků pro racionální výrobu hovězího masa s garantovanými parametry jakosti a minimalizací nákladů na jeho produkci.

Projekt vychází z reálné skutečnosti, kdy zásadní organizační změny v zemědělství vedou ke snížení živočišné produkce a tím též k nižší spotřebě krmných surovin z kampaňových provozů. Týká se to zejména cukrovarských řízků, produkovaných v ročním objemu cca 2 mil. tun. Aby se tyto případně nestaly obtížným odpadem s přímou zátěží životního prostředí, byly ve výzkumné bázi řešeny možnosti jejich účelného využití.

Podle metodických záměrů byl proveden na účelovém objektu VÚŽV Uhříněves srovnávací výkrmový test na dvou skupinách býků – kříženců světových masných plemen (n = 30) při uplatnění dvou nutričních režimů.

Nutriční režim byl založen na aplikaci základní krmné dávky složené z kukuřičné siláže a lučního sena. Kontrolní soubor (n = 15) obdržel jako produkční jadrný přídavek komerční směs KVS, zatímco pokusné skupině (n = 15) byla zkrmována experimentální dieta se zastoupením 60% SCŘ jako kompenzace za zrniny.

Po dosažení průměrné porážkové hmotnosti cca 550 kg byli všichni býci poraženi s provedením následné disekce jatečných trupů z důvodů zjištění ukazatelů jatečné hodnoty. Současně byly odebrány průměrné vzorky svaloviny a orgánů pro chemické analyzy na obsah základních živin.Dále byl stanoven obsah těžkých kovů (kadmium, olovo, rtuť) ve dvou partiích svaloviny (roštěnec, kýta) a orgánech (játra, ledviny).

Závěrečné hodnocení zahrnovalo provedení senzorického posouzení organoleptických vlastností hovězího masa v rámci určení možných diferencí v tomto spotřebitelsky rozhodujícím jakostním kritériu.

Průměrné ukazatele jatečné hodnoty prokázaly srovnatelné údaje jatečné výtěžnosti mezi kontrolní (60,6%) a pokusnou skupinou (60,4%). Z hodnot detailních jatečných partií, rozdíly mezi podíly masa a kostí u porovnávaných skupin nelze rozlišit na žádné hranici významnosti.

Výrazné diference mezi kontrolním a pokusným souborem však byly nalezeny v obsahu oddělitelného tuku na jatečném trupu. Podíl ledvinového loje u kontrolních býků vykázal v průměru o 24,2% vyšší hodnoty v porovnání s pokusnou skupinou (K – 9,1 kg, P – 6,9 kg). Stejná tendence se jeví i v případě obžaludkového loje, kdy kontrolní býci zaznamenali hodnoty vyšší o 36,7% při vyšší průměrné výšce tuku o 21,9 %. Z uvedeného je patrné zřejmé vyšší protučnění jatečných trupů u kontrolního – standardního režimu krmení.

Zatímco u hodnot sušiny a bílkovin nebyly zjištěny podstatné rozdíly, zřejmé diference jsou nalezeny ve zvýšeném obsahu tuku ve svalovině kontrolních vzorků (K – 31,5g, P – 28,3g). Stejné tendence jsou patrny ve zvýšeném obsahu cholesterolu u kontrolního souboru (K – 416,1mg, P – 405,1mg).Též jeden z významných ukazatelů technologické jakosti masa – odkap (ztráta šťávy) vykázal příznivější hodnoty u pokusného režimu, i když je třeba konstatovat v obou případech velmi nízké hodnoty tohoto ukazatele, což svědčí z uvedeného pohledu o vysoké kvalitě posuzovaných vzorků masa.

Z důvodů stanovení hygienické nezávadnosti finálního produktu, zejména v souvislosti s dlouhodobou aplikací vysokých dávek SCŘ, bylo též provedeno laboratorní vyšetření masa a orgánů na obsah těžkých kovů. Výsledky analyz prokázaly, že veškeré nalezené hodnoty nepřesahují hygienické normativy bez prokázání diferencí mezi krmnými režimy.

Na závěr výkrmového testu bylo provedeno senzorické hodnocení organoleptických vlastností hovězího masa pětibodovou stupnicí podle metodiky ISO. Posuzováno bylo maso z kýty (musc. gluteus) pořadovou a trojúhelníkovou zkouškou. Z bodových hodnot hodnocených vzorků masa z pohledu celkového profilu vyplývá, že nebyly nalezeny statisticky významné diference, které lze přičítat pokusným zásahům. I když jsou patrny určité rozdíly v jednotlivých smyslových kritériích, zejména chuti a křehkosti masa mezi typy masných hybridů, objektivní posouzení by vyžadovalo obsáhlejší experimentální sledování.

Ekonomické vyhodnocení výkrmového testu jako jednoho z rozhodujících kritérií produkce prokázalo z pohledu vyčíslení vlastních nákladů na krmiva pozitivní vliv pokusného zásahu ve smyslu snížení nákladů na jednotku produkce o 2,3%.

PRŮMĚRNÉ VYBRANÉ UKAZATELE JATEČNÉ HODNOTY A PODÍL ODDĚLITELNÉHO TUKU

UKAZATEL		SKUPINA	
		KONTROLNÍ	POKUSNÁ
Průměrná porážková			
živá hmotnost	kg	550	544
Hmotnost JUT	kg	333,8	327,8
Výtěžnost	%	60,6	60,4
Ledvinový lůj	kg	9,1	6,9
index	%	100	63,3
Obžaludkový lůj	kg	5,7	3,6
index	%	100	63,3
Střevní lůj	kg	2,2	2,2
Oddělitelný tuk celkem	kg	17	12,4
Index	%	100	72,9

OBSAH RIZIKOVÝCH LÁTEK (TĚŽKÉ KOVY) V MASE (mg.Kg-1)

PARTIE	KONTROLNÍ SKUPINA			POKUSNÁ SKUPINA		
	KADMIUM	OLOVO	RTUŤ	KADMIU	OLOVO	RTUŤ
LEDVINY	0,092	0,339	0,004	0,181	0,410	0,005
JÁTRA	0,040	0,429	0,001	0,066	0,395	0,009
ROŠTĚNEC	0,003	0,138	0,001	0,002	0,258	0,001
KÝTA	0,008	0,182	0,001	0,007	0,214	0,002

Hodnoty v původní sušině

PŮSOBENÍ KUKUŘIČNÉ A VOJTĚŠKOVÉ SILÁŽE NA JATEČNOU HODNOTU A KVALITU MASA BÝKŮ VE VÝKRMU

Kudrna V., Lang P., Mlázovská P.
Výzkumný ústav živočišné výroby, Přátelství 815, 104 01 Praha 10 - Uhříněves

Vzhledem k požadavkům spotřebitelů se neustále hledají nové možnosti zlepšování kvality živočišných produktů. Lidská populace kryje cca 40 % potřeb energie prostřednictvím živočišných tuků. Z hlediska zdravé výživy by měly nanejvýš jednu třetinu tvořit nasycené mastné kyseliny a nejméně jednu třetinu by měly tvořit jednoduché nenasycené mastné kyseliny. Vzhledem k tomu, že některé vitaminy mohou být přijímány pouze s tukem, neměl by obsah tuku v lidské potravě klesnout pod 15 % (SHAEFER, cit GIESE, 1996). Takže kromě požadavku na snížení příjmu tuku je nezbytné se zabývat kvalitativním aspektem živočišného tuku, který není ještě zcela známý, a to jak v souvislosti s typem výživy, tak i co se týče plemen skotu, prasat a dalších druhů hospodářských zvířat. U zvířat s jednoduchým žaludkem lze zkrmováním odpovídajících tuků složení jejich vlastního tuku významně ovlivnit. Také u přežvýkavců lze výživou ovlivnit nejen intenzitu růstu a složení jatečného těla, ale i poměry mastných kyselin, které jsou však u přežvýkavců méně ovlivnitelné, než u monogastrů. Specifickou mastnou kyselinou v tuku přežvýkavců je konjugovaná kyselina linolová.

MATERIÁL A METODIKA

Cílem pokusu, který byl proveden na 24 bycích českého strakatého a holštýnského plemene bylo zjistit vliv dvou základních objemných krmiv - kukuřičné siláže a vojtěškové siláže na intenzitu růstu a kvalitu masa , včetně obsahu mastných kyselin. Býci byli rozděleni na dvě vyrovnané skupiny. Krmná dávka býků kontrolní skupiny (K) byla tvořena vojtěškovou siláží (12 kg/ks/den), pšeničným šrotem (4,30 kg/ks/den), pšeničnou slámou (0,60 kg/ks/den) a minerálními doplňky, zatímco pokusné skupině (P) byla podávána kukuřičná siláž (12,47 kg/ks/den), silážovaná drť kukuřičných palic - LKS (3,55 kg/ks/den), pšeničná sláma (0,52 kg/ks/den) a minerální doplňky. Použité dávky byly izonitrogenní a izokalorické. Býci byli váženi v měsíčních intervalech. Po dosažení 550 kg živé hmotnosti byli poráženi a bylo provedeno chemické a senzorické hodnocení kvality jejich masa a jatečný rozbor.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Intenzita růstu býků obou skupin je zachycena v tabulce č. 1. Statisticky neprůkazně vyšších ($P > 0,05$) přírůstků hmotnosti (1,161 kg/ks/den) bylo dosaženo u pokusných zvířat,kterým byla zkrmována krmná dávka s kukuřičnou siláží a LKS.

Tabulka 1: Intenzita růstu (kg)

PARAMETR	SKUPINA	
	K	P
Průměrná hmotnost na začátku pokusu	345,64	347,08
Průměrná porážková hmotnost	568,83	582,75
Průměrný přírůstek (kg/kus a den)	1,060	1,161

V krevních parametrech (tabulka č. 2) byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v koncentraci močoviny ($P < 0,01$) a v obsahu cholesterolu ($P < 0,05$). Obsah močoviny v krvi býků byl nízký nejen u kontrolní skupiny, ale u pokusné skupiny byl dokonce pod úrovní obvyklých fyziologických hodnot. Vysvětlením by mohlo být vysoké využití dusíkatých látek

krmné dávky v souvislosti s optimální energetickou dotací, o čemž svědčí dobrá úroveň obsahu glukózy.

Tabulka 2: Průměrné hodnoty krevních parametrů

PARAMETR	jednotky	SKUPINA			
		K - 2½ hod po krmení	K - 6 hod po krmení	P - 2½ hod po krmení	P - 6 hod po krmení
glukóza	mmol/l	**5,21**	**5,28**	**5,07**	**5,19**
bílkoviny celkem	g/l	**60,78**	**61,80**	**59,70**	**62,50**
močovina	mmol/l	**4,40**	**3,67**	**1,43**	**1,20**
lipidy celkem	g/l	**2,73**	**2,75**	**2,77**	**2,89**
cholesterol	mmol/l	**1,52**	**1,59**	**1,72**	**1,80**

Tabulka 3: Chemický rozbor *musculus longissimus dorsi*

PARAMETR	jednotky	SKUPINA	
		kontrolní	pokusná
sušina	g/kg	**245,01**	**250,28**
tuk	g/kg	**16,89**	**23,32**
bílkoviny	g/kg	**203,39**	**202,61**
hydroxyprolin	g/kg	**0,736**	**0,675**
cholesterol	mg/kg	**333,9**	**337,4**
přidaná voda	%	**23,11**	**21,78**

Statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,05$) byl zjištěn v obsahu hydroxyprolinu v *musculus longissimus dorsi* (tab. 3) a v obsahu tuku ($P < 0,05$), kterého bylo více u pokusných býků, pravděpodobně zásluhou vyšší intenzity růstu.

V tabulce č. 4 jsou uvedeny některé ukazatele masné užitkovosti. Většina z nich, podobně jako údaje uvedené v tabulce č. 5, jsou v souladu s intenzitou růstu a porážkovou hmotností.

Tabulka 4: Hmotnosti čtvrtí a jatečná výtěžnost

PARAMETR	jednotky	SKUPINA	
		kontrolní	pokusná
Zadní čtvrtě PZ (po 24 hod.)	kg	81,49	84,96
% hmot. před poráž.	%	14,70	14,08
LZ	kg	81,05	83,80
% hmot. před poráž	%	14,62	13,89
Přední čtvrtě PP	kg	75,08	77,14
% hmot. před poráž	%	13,55	12,79
LP	kg	74,22	76,83
% hmot. před poráž	%	13,39	12,73
Zadní čtvrtě	kg	162,54	168,76
Přední čtvrtě	kg	149,30	153,97
Poměr přední:zadní		1:1,089	1:1,096
Hmotnost jateč. těla	kg	311,84	322,73
Jatečná výtěžnost	%	56,26	57,35

S výjimkou podílu střevního loje byla neprůkazně vyšší tvorba loje zjištěna u kontrolní skupiny. Rozdílné krmné dávky v podstatě neovlivnily podíl jatečných lojů.

Tabulka 5: Podíl vnitřního loje

PARAMETR	jednotky	SKUPINA	
		kontrolní	pokusná
Obžaludkový lůj	kg	3,62	3,73
% hmot. před porážkou	%	0,65	0,62
Ledvinový lůj	kg	6,86	7,19
% hmot. před porážkou	%	1,24	1,19
Střevní lůj	kg	1,85	1,79
% hmot. před porážkou	%	0,33	0,30

Tabulka 6: Obsah mastných kyselin v *musculus longissimus dorsi*

KYSELINY	jednotky	SKUPINA	
NASYCENÉ		kontrolní	pokusná
C6:0 kapronová	%	0,019	0,021
C8:0 kaprylová	%	0,014	0,016
C10:0 kaprinová	%	0,048	0,048
C11:0	%	0,005	0,006
C12:0 laurová	%	0,066	0,063
C13:0	%	0,010	0,012
C14:0 myristová	%	2,286	2,476
C15:0	%	0,463	0,434
C16:0 palmitová	%	25,593	25,706
C17:0	%	1,221	1,029
C18:0 stearová	%	15,365	15,011
C20:0 arachová	%	0,128	0,115
C21:0	%	0,475	0,248
C22:0	%	0,017	0,017
C23:0	%	0,011	0,030
C24:0 lignocerová	%	0,028	0,021
NENASYCENÉ			
C14:1 myristoolejová	%	0,487	0,663
C16:1 palmitoolejová	%	3,285	3,678
C17:1	%	0,905	0,872
C18:1 olejová	%	34,273	38,292
C18:2 linolová	%	8,790	7,176
C18:3 γ-linolenová	%	0,221	0,183
C18:3 α-linolenová	%	1,573	0,654
C20:1 eikosanová	%	0,156	0,166
C20:2 eikosadienová	%	0,104	0,081
C20:3n6	%	0,051	0,152
C20:4 arachidonová	%	2,464	1,912
C20:3n3	%	0,043	0,021
C20:5 EPA	%	0,435	0,216
C22:1 eruková	%	0,012	0,014
C22:2	%	0,194	0,179
C22:4	%	0,190	0,247
C22:5	%	0,964	0,551
C22:6 DHA	%	0,025	0,024
C24:1 nervonová	%	0,019	0,015

Při analýze mastných kyselin v mase poražených býků byly zjištěny u kontrolních býků vyšší koncentrace kyseliny linolové, α-linolenové, γ-linolenové ($P < 0,05$) a $C_{22:5}$ ($P < 0,01$) a statisticky průkazně vyšší ($P < 0,01$) obsah kyseliny olejové u pokusných býků.

Tabulka 7: Poměry mezi mastnými kyselinami v *musculus longissimus dorsi (%)*

MASTNÉ KYSELINY	SKUPINA	
	kontrolní	pokusná
SFA (nasycené)	**45,75**	**45,25**
UFA (nenasycené)	**54,19**	**55,09**
UFA/SFA	**1,18**	**1,22**
MUFA celkově	**39,14**	**43,70**
PUFA celkově	**15,05**	**11,39**
PUFA/SFA	**0,33**	**0,25**
n-6 celkem	**9,67**	**11,72**
n-3 celkem	**0,89**	**2,03**
n-6/n-3	**10,87**	**5,77**

ZÁVĚR

Při zkrmování pokusné krmné dávky (kukuřičná siláž) bylo dosaženo vyššího příjmu sušiny. Býci této skupiny (P) měli neprůkazně vyšší intenzitu růstu, než kontrolní skupina s vojtěškovou siláží. Býci kontrolní skupiny měli statisticky průkazně vyšší obsah močoviny a při odběru 5 hodin po krmení i koncentraci cholesterolu v krevní plazmě. Při chemické analýze *musculus longisimus dorsi* (MLD) byl u pokusné skupiny zjištěn vyšší obsah tuku (o 6,43 g/kg) a nižší obsah cholesterolu (o 3,5 mg/kg; $P < 0,05$). Dále byly v MLD kontrolních býků vyšší obsahy kyseliny linolové, α-linolenové, γ-linolenové ($P < 0,05$) a $C_{22:5}$ ($P < 0,01$) a statisticky průkazně vyšší ($P < 0,01$) obsah kyseliny olejové u pokusných býků.

Tento projekt byl proveden jako součást řešení Institucionálního záměru MZe M02 - 99 - 04.

STANOVENÍ TĚKAVÝCH LÁTEK SALÁMU

Ševčík R.[1], Čížková H.[1], Voldřich M.[1], Krátká J.[1], Krupička Š[2].
1-Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
2-Cutisin a.s., člen Devro Teepack group, Jílemnice

Úvod

Fermentované tepelně neopracované salámy představují pestrou skupinu masných výrobků s charakteristickou vůní a chutí. Na senzorických vlastnostech výrobků se podílí řada faktorů jako jsou: oxidační procesy různě intenzivní podle složení suroviny (podíl tuku, složení tuku), průběh mikrobiologických pochodů spontánní změny před žádoucím rozvojem startovací kultury nebo přirozeně se vyskytujících bakterií mléčného kvašení, průběh fermentace, způsob a podmínky uzení, receptura produktu (použitá koření). Pokud se jedná o produkty s plísní na povrchu, jsou senzorické vlastnosti produktu ovlivňovány také plísní.
Během práce byly ověřovány a porovnány různé izolační techniky stanovení těkavých látek salámu -SPME (různé typy sorbentů, různé podmínky adsorpce/desorpce), destilace/extrakce podle Lickens-Nickersona a přímá adsorpce na Tenax.

Materiál

Modelový fermentovaný salám Herkulík , fermentované salámy a klihovková střívky různého složení a původu dodané firmou Cutisin a.s.

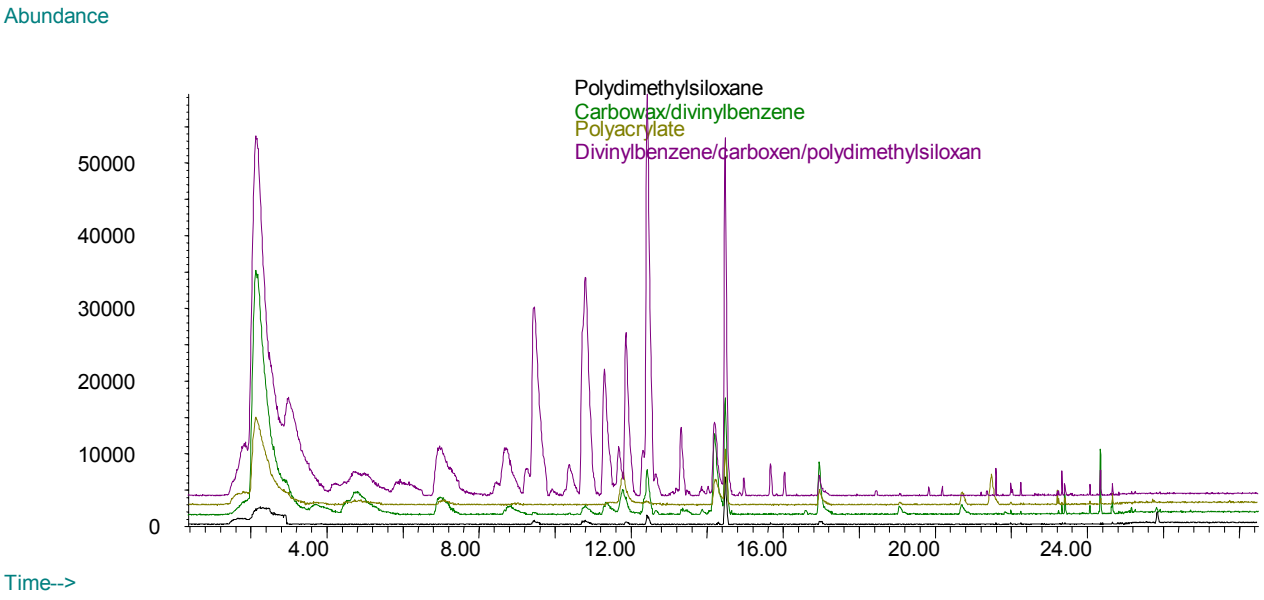
Izolační metody

Simultánní destilace/extrakce podle Likens-Nickersona (30g vzorku, 120 ml H2O, 50 ml diethyletheru, 3 hodiny), přímá adsorpce na Tenax (20g vzorku, 0.1g Tenax, 20min/30°C, extraction 2x10ml ditehyletheru) Solid phase microextraction (SPME- Supelco Inc., USA), ověřované podmínky SPME:
stacionární fáze:Polydimethylsiloxane (100um), Carbowax/divinylbenzene (65um) CW/DVB, Polycrylate (85um), Divinylbezene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (50/30um) DVB/CAR/PDMS
Doba sorpce: 5,15, 25 min
Teplota sorpce: 20,30, 40, 60°C

Podmínky GC/MS analýzy

kolona: DB 5 30m x 0,25mm x 0,25mm (J&W Scientific, USA)
mobilní fáze: Helium 0,7ml/min, pressure 26kPa,
teplotní program: 50°C (5min) , 6°C/min, 140°C, 30°C/min, 280°C (5min)
nástřik: 240°C, splitless
detektor: 280°C, EI 70eV
Sloučeniny byly identifikovány porovnáním s knihovnou spekter a kvantifikovány metodou vnitřního standardu
Výsledky a diskuse
Optimalizované podmínky SPME izolace:

vzorek:	5g v15ml headspace vialce
vlákno:	Divinylbezene/Carboxen/Polydimethylsiloxane
sorpce:	headspace, 15min, 30°C
desorpce:	10min, 240°C



Překryté chromatogramy odezvy použitých stacionárních fází SPME na těkavé látky salámu

Těkavé látky salámu izolované různými metodami rozdělené podle jejich pravděpodobného původu

Původ	Izolační metoda				
	SPME CW/DVB	SPME DVB/CAR/PDMS	Likens-Nickerson	Tenax TA	Literatura (purge and trap)
Koření (e.g. α-pinene, sabinene, 3-carene, limonene, α-terpinene, camphor, eugenol)	*	***	*		***
Tuly a oxidace tuků(e.g. 3-oktanone, 1-octen-3-ol, octanal, 2-decenal, 2-nonanone, pentadecanone, octanoic acid, decanoic acid, dodecanoic acid, tetradecanonic acid)	*	**	***	*	***
Fermentace (e.g. 2,3-butanedienol, 1,3-butanedienol)	**	**			***
Neznámý původ(e.g. 2-methoxyphenol, benzacetaldehyd, 2,6-dimethoxaphenol, 1-propenyl-2-methoxyphenol, pentamethylheptane	**	**	**	**	**
Celkový obsah těkavých látek (mg/kg)	1370	3703	1335	285	8325

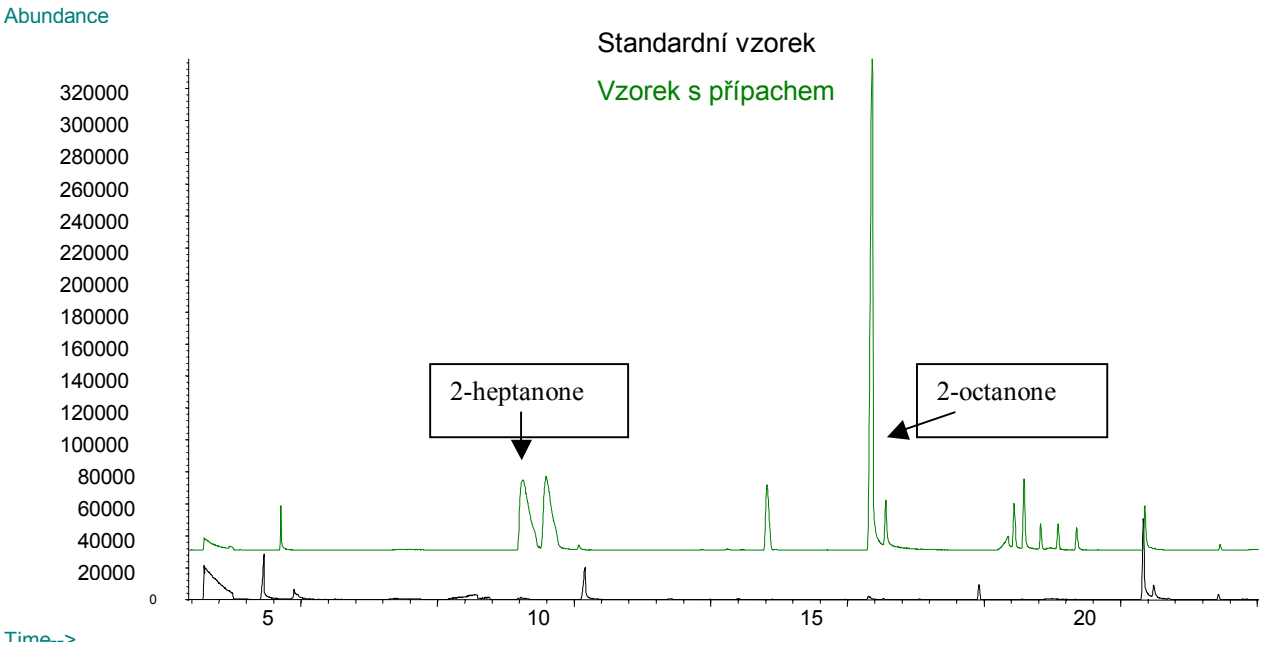
Závěr

Metoda	Výhody	Nevýhody
SPME	Jednoduchá a snadná rychlá	nutná optimalizace není citlivá pro všechny analyty
Likens-Nickerson	levná	organická rozpouštědla časově náročná není citlivá pro všechny analyty
Tenax	jednoduchá levná	organická rozpouštědla není citlivá pro těkavé analyty
Purge and trap	citlivá pro těkavé látky	náročná instrumentace

- Přestože použité metody nejsou ve většině případů tak citlivé jako purge and trap vzájemně se doplňují a jejich výsledky poskytují dostatečné informaci o zastoupení jednotlivých těkavých látek v salámu
- Rychlá a poměrně jednoduchá izolační metoda SPME byla využita k řešení technologického problému změny senzorickcýh vlastností salámů.

Příklad využití SPME izolace k identifikaci přípachu salámu

Zákazník zpracovávající klihovková střívka pro výrobu fermentovaných tepelně neopracovaných salámů s ušlechtilou plísní reklamoval změny senzorických vlastností produktu, které podle několika reklamací zákazníků mají jiný zápach než obvykle, kdy produkt více voní po modrém sýru. Metoda SPME byly použita k porovnání rozdílů v zastoupení hlavních těkavých látek salámů a některých vstupních surovin (střívek, oleje). V podezřelých vzorcích byly navíc identifikovány některé methylketony. Přestože doplňkové analýzy (stanovení zbytkového cukru v salámu) indikovaly i nesprávné vedení fermentačního procesu, bylo jako hlavní příčina odlišné vůně vzorků zjištěno použití odlišného oleje při výrobě. Uvedený olej obsahuje zejména kyselinu kaprylovou a kaprinovou, tyto mastné kyseliny jsou metabolizovány ušlechtilou plísní na povrchu salámku a velmi pravděpodobně beta-oxidací vzniká 2-heptanon z kyseliny kaprylové a 2-nonanon z kyseliny kaprinové. Kromě jiného, jsou zmíněné látky typickými složkami aroma modrého sýru.



Použitá literatura
1.Meynier, A., Novelli, E., Chizzolini, R., Zanardi, E., Gandemer, G., Volatile compounds of commercial Milano salami, *Meat Science, Volume 51,Issue 2, February 1999, Pages 175-183*.2.Procida, G., Conte, L. S., Fiorasi, S., Comi, G. Favretto, L. G., Study on volatile components in salami by reverse carrier gas headspace gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography. A, Volume830, Issue 1, January 8, 1999, Pages 175-182*.3.Javier Mateo, José María Zumalacárregui Volatile Compounds in Chorizo and Their Changes During Ripening, *Meat Science, Volume 44, Issue 4, December 1996, Pages 255-273.*

VÝSKYT A OBSAH POLYFOSFÁTOV VO VYBRANÝCH MÄSOVÝCH VÝROBKOCH

Staruch L.[1], Volanský P.[1], Lederleitnerová J.[2], Budajová J.[2], Vranková E.[2], Štullerová Ľ.[2]
1-Katedra potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
2-Slovenská poľnohospodárska a potravinárska inšpekcia, Bratislava

ÚVOD

Významnou skupinou látok, ktoré sa používajú v mäsovej výrobe, predstavujú deriváty kyseliny fosforečnej – tzv. fosfáty. V odborných kruhoch sa viac vžil pojem polyfosfáty. Ide pritom o fosforečnany – mono-, di- a trifosforečnany a vlastné polyfosfáty. Legislatíva povoľuje použitie kyseliny fosforečnej a fosfátov (E 338 – E 341, E 450 – E 452) jednotlivo, alebo v kombinácii až do hodnoty najvyššieho povoleného množstva, ktoré je počítané v mg P_2O_5 na 1 kg. Tieto látky sa nepridávajú len do mäsových výrobkov, ale napríklad aj do zahusteného mlieka, sterilizovanej a UHT smotany, tavených syrov, nápojov pre športovcov, zmrzliny, alkoholických nápojov okrem piva a vína atď.

MATERIÁL A METÓDY

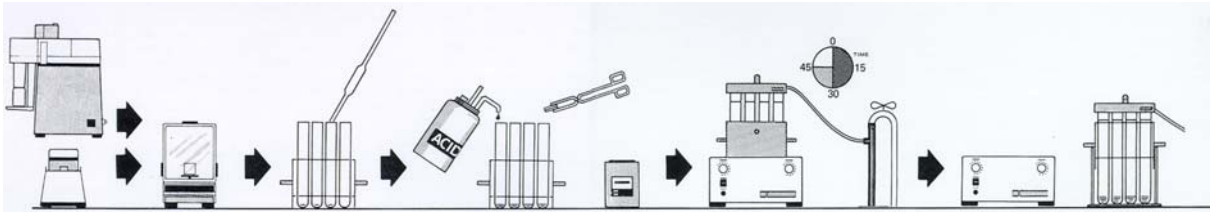
Analyzované boli tri šunky od troch rôznych výrobcov. Prvou bola „Dusená strojová šunka“ od firmy Západ. Druhou bola „Dusená strojová šunka“ od firmy Stred a tretia „Fit šunka“ od firmy Východ. Experimentálne bol sledovaný obsah **polyfosfátov**, **celkových proteínov**, **sušiny (resp. vody).** Všetky analyzované šunky sú bežne dostupné v maloobchodnej sieti. Nákup bol realizovaný v priebehu troch na seba nadväzujúcich týždňov.

Norma akosti výrobku „Dusená šunka“, STN 57 7035 z 1.1.1993, určuje presne požiadavky na surovinu, prídavné látky a obaly, rovnako ako aj senzorické, fyzikálne a chemické požiadavky na hotový výrobok.

Presný technologický postup výroby dusenej šunky určuje norma THN – „Dusená šunka“, ktorá zodpovedá ČSN 57 6099 „Mäsové výrobky. Spoločné ustanovenie.“ a ČSN 57 7035 „Dusená šunka“.

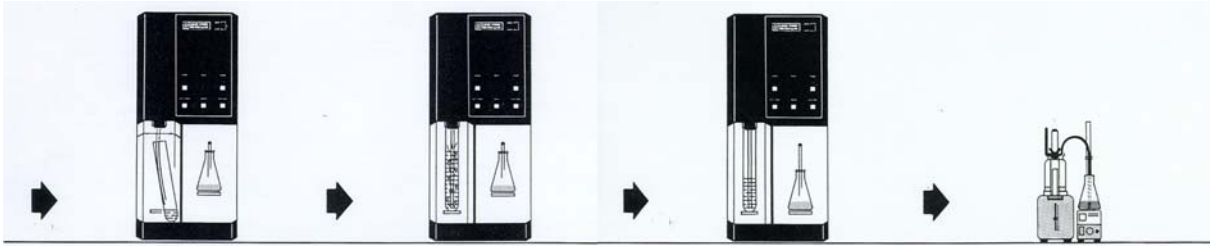
Stanovenie obsahu celkových bielkovín: Potravinový kódex Slovenskej republiky ustanovuje prvým oddielom piatej hlavy tretej časti v § 2 odsek 54 celkové bielkoviny ako množstvo dusíka (N) stanovené Kjeldahlovou metódou v mäsovom výrobku vynásobené faktorom 6,25.

Princíp metódy spočíva v mineralizácii potravinovej vzorky za prítomnosti selénového katalyzátora. Organicky viazaný dusík sa zmineralizuje na amoniakálny, uvoľní sa destiláciou a zachytáva sa v roztoku H_3BO_3. Následne sa titruje HCl s koncentráciou 0,1 mol/dm^3. Touto metódou sa stanoví celkový obsah dusíka a prepočíta sa na obsah bielkovín.



Homogenizácia Váženie Dávkovanie vzorky... ...a reagencií Mineralizácia Ochladenie mineralizátov

Obr. 1.: Priebeh stanovenia celkového dusíka podľa Kjeldahla (1.časť)



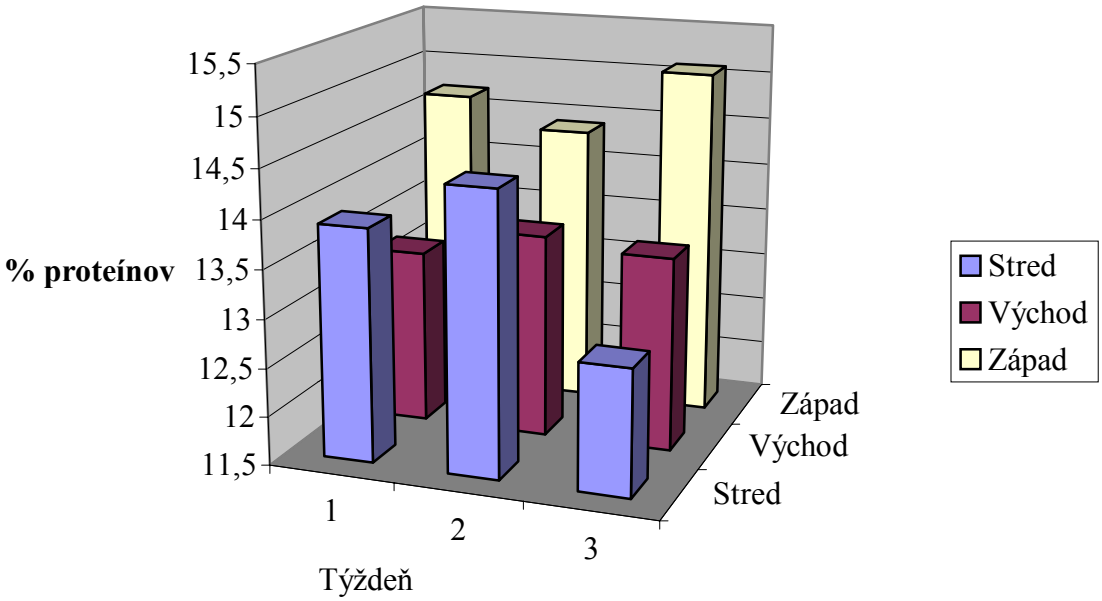
Nasadenie trubice na destilačnú hlavu Priebeh destilácie vodnou parou Ukončenie destilácie Titrácia a výpočet

Obr. 2.: Priebeh stanovenia celkového dusíka podľa Kjeldahla (2.časť)

Stanovenie obsahu polyfosfátov: Po mineralizácii vzorky za prítomnosti selénového katalyzátora sa prítomný fosfor vo forme kyseliny fosforečnej prevedie s molybdénanom amónnym na fosfomolybdénan, ktorý sa síranom hydrazínu zredukuje na molybdénovú modrú. Intenzitu zafarbenia sa meria spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 590 nm. Kalibračná priamka sa zostrojí pomocou štandardných roztokov KH_2PO_4.

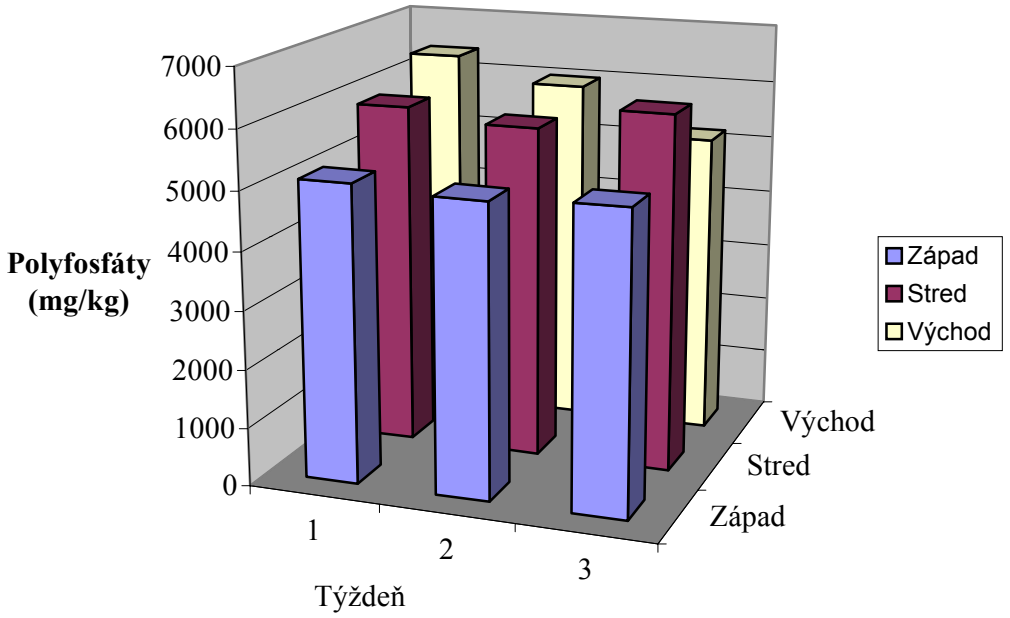
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z obrázku 3 vidieť rozdiely medzi percentuálnym obsahom bielkovín v šunkách jednotlivých výrobcov a tiež kolísanie obsahu bielkovín v konkrétnej šunke každého výrobcu v závislosti od času. Pri každej analýze bolo vykonaných 9 paralelných stanovení, z ktorých sa potom vypočítala priemerná hodnota.



Obr. 3.: Percento obsahu proteínov v analyzovaných vzorkách

Z nasledovného obrázku číslo 4 je možné porovnať šunky jednotlivých výrobcov a rovnako sledovať kolísanie obsahu polyfosfátov v šunkách jednotlivých výrobcov. Pri každej analýze bolo vykonaných 9 paralelných stanovení, z ktorých sa potom vypočítala priemerná hodnota obsahu polyfosfátov.



Obr. 4.: Obsah polyfosfátov v analyzovaných vzorkách

Tab. 2.: Priemerný obsah polyfosfátov (ako P_2O_5 v mg/kg) vo vzorkách počas obdobia troch týždňov

Vzorka	1. týždeň	2. týždeň	3. týždeň
Západ	5100	5000	5100
Stred	5900	5700	6000
Východ	6400	6000	5200

Polyfosfáty patria medzi aditívne látky, ktorých maximálne povolené množstvo je legislatívne zakotvené v Potravinovom kódexe Slovenskej republiky. Vzhľadom k tomu, že ide o cudzorodé látky v potravinách, je pri ich používaní nutné prísne dodržiavať hygienické požiadavky na ich aplikáciu. Potravinový kódex § 148 odsek (1) definuje používanie prídavných látok a technologických pomocných látok: „Prídavné látky a technologické pomocné látky sa môžu pridávať do potravín len v nevyhnutnom potrebnom množstve podľa zásad správnej výrobnej praxe, najviac však v najvyššom prípustnom množstve. Najvyššie prípustné množstvo prídavných látok a technologických pomocných látok predstavuje ich celkový obsah v potravinách v konzumnej forme alebo v spotrebiteľskom obale... ”. **V prílohe č.1 k tretej hlave druhej časti Potravinového kódexu Slovenskej republiky je najvyššie prípustné množstvo polyfosfátov v mäsových výrobkoch stanovené na 5000 mg/kg vyjadrené ako P_2O_5.**

Z analyzovaných vzoriek bol najnižší obsah pridaných polyfosfátov nameraný v dusenej šunke od firmy Západ. Pri všetkých troch odberoch vzoriek bol obsah pridaných polyfosfátov v spomínanej šunke firmy Západ najnižší ako je to dobre vidieť na obrázkoch. V tejto šunke bol obsah polyfosfátov počas obdobia troch týždňov aj najvyrovnanejší. Obsah polyfosfátov kolísal o necelé 2 %. Najvýraznejšie rozdiely v obsahu polyfosfátov počas sledovaného obdobia troch týždňov boli namerané v šunke firmy Východ. Pri porovnaní výsledkov z prvého a z tretieho týždňa predstavoval rozdiel nameraných hodnôt obsahu polyfosfátov 18,9 %.

Priemerný obsah polyfosfátov počas obdobia troch týždňov bol u šunky firmy Západ 5100 mg/kg, u šunky firmy Stred 5900 mg/kg a u šunky firmy Východ 5900 mg/kg. V šunke firmy Západ bol priemerný obsah polyfosfátov v porovnaní so šunkami ostatných dvoch výrobcov o 13,5 % nižší.

V dusenej šunke firmy Stred a vo „Fit“ šunke firmy Východ stanovený obsah polyfosfátov prekračoval najvyššie prípustné množstvo 5000 mg/kg.

Codex Alimentarius určuje najvyššie prípustné množstvo (maximum level) fosfátov (prirodzene prítomných plus pridaných) na hranici 8000 mg/kg ako P_2O_5. Obsah prirodzene prítomných fosfátov sa pritom počíta podľa vzorca:

prirodzene prítomné fosfáty (ako P_2O_5 v mg/kg) = 250 x % proteínov

Pridané množstvo fosfátov (mono-, di- a poly-) vo forme draselných a sodných solí môže podľa Codex Alimentarius predstavovať 3000 mg/kg ako P_2O_5. Môžu byť použité jednotlivo alebo v kombinácii. Treba však zdôrazniť, že Codex Alimentarius nie je náhradou legistatívy štátu a nemá pre výrobcov záväzný charakter.

V tabuľke 3 sú výsledky analýz prepočítané podľa odporúčaní Codex Alimentarius. Tieto údaje sú len informatívne, pretože limity stanovené v Codex Alimentarius nie sú pre výrobcov záväzné. V tabuľke sú priemerné hodnoty obsahu celkových fosfátov vo vzorkách v jednotlivých týždňoch, pod ktorými je ich rozdelenie na fosfáty pridané a fosfáty prirodzene prítomné. Obsah prirodzene prítomných fosfátov bol počítaný ako 250 x % proteínov.

Tab. 3.: Obsah fosfátov v analyzovaných vzorkách vztiahnutý na limity odporúčané Codex Alimentarius

Vzorka	1.týždeň		2.týždeň		3.týždeň	
	Celk. obs. fosfátov ako P_2O_5 (mg/kg)		Celk. obs. fosfátov ako P_2O_5 (mg/kg)		Celk. obs. fosfátov ako P_2O_5 (mg/kg)	
	Prirodz. prítomné fosfáty ako P_2O_5 (mg/kg)	Pridané fosfáty ako P_2O_5 (mg/kg)	Prirodz. prítomné fosfáty ako P_2O_5 (mg/kg)	Pridané fosfáty ako P_2O_5 (mg/kg)	Prirodz. prítomné fosfáty ako P_2O_5 (mg/kg)	Pridané fosfáty ako P_2O_5 (mg/kg)
Západ	6500		6400		6600	
	3700	2800	3600	2800	3800	2800
Stred	7300		7100		7300	
	3500	3800	3600	3500	3200	4100
Východ	7700		7300		6500	
	3300	4400	3400	3900	3400	3100

Dusená šunka firmy Západ spĺňa ako jediná všetky kritériá na obsah fosfátov odporúčané Codex Alimentarius. Celkový obsah fosfátov nebol prekročený ani u jedného z výrobcov. Iná je však situácia z hľadiska množstva pridaných fosfátov. Ako vidno z tabuľky, zatiaľ čo obsah prirodzene prítomných fosfátov bol v šunkách jednotlivých výrobcov pomerne stály, obsah pridaných fosfátov kolísal výraznejšie. Najlepšie je to vidieť u šunky od firmy Východ, kde obsah pridaných fosfátov kolíše v časovom rozpätí troch týždňov až o 1300 mg/kg, čo predstavuje rozdiel na úrovni 29,5 %. Je tu však jednoznačne viditeľný pozitívny trend znižovania obsahu pridaných fosfátov, čo treba hodnotiť kladne. Vzorová je v tomto smere šunka firmy Západ, kde je obsah pridaných fosfátov zjavne presne kontrolovaný (počas celých troch týždňov bol na úrovni 2800 mg/kg) a sú presne dodržiavané predpisy na používanie prídavných látok a technologicky pomocných látok. Vo vzorke šunky od firmy Východ bol obsah pridaných fosfátov v prvom týždni v porovnaní s priemerným obsahom fosfátov vo vzorke šunky od firmy Západ až o 57 % vyšší.

V priemere bolo v šunke firmy Východ o 35,7 % viac pridaných fosfátov (3800 mg/kg) ako v šunke firmy Západ (2800 mg/kg). To isté platí aj pre šunku firmy Stred, kde bol priemerný obsah pridaných fosfátov rovnaký ako u šunky firmy Východ (3800 mg/kg).

ZÁVER

Analyzované boli vybrané mäsové výrobky na ich obsah bielkovín a fosfátov. Okrem týchto dvoch hlavných parametrov bol sledovaný ešte obsah sušiny (resp. vody) a pomer voda : celkové bielkoviny. Na analýzu boli vybrané tieto výrobky:

- dusená strojová šunka firmy Západ
- dusená strojová šunka firmy Stred
- šunka Fit firmy Východ

Tieto druhy výrobkov boli vybrané zámerne, pretože v snahe výrobcu o čo najlepšiu ekonomiku výroby sa môže ľahko stať, že finálny výrobok neobsahuje predpísané minimálne množstvo bielkovín a obsah vody a fosfátov prekračuje prípustné limity. Mäso a mäsové výrobky sú okrem iného dôležitým zdrojom plnohodnotných bielkovín, minerálnych látok (Na, K, Ca, Mg,...), stopových prvkov (Fe, Zn, Cu, Se,...). Vzhľadom k vysokej nutričnej hodnote mäsa a mäsových výrobkov a vzhľadom k pomerne vysokej cene týchto produktov je potrebná dôsledná kontrola zo strany kontrolných orgánov potravinového dozoru v záujme ochrany spotrebiteľa.

Na základe analýz bolo zistené, že obsah bielkovín vo vzorkách dusenej šunky nedosahoval minimálnu hodnotu požadovanú normou STN 57 7035. Je treba zdôrazniť, že šunka od firmy Východ nie je deklarovaná ako dusená, preto na ňu nemožno vzťahovať požiadavky normy STN 57 7035, ktorá platí pre dusenú šunku. V priamom porovnaní obsahu bielkovín s dusenými šunkami firiem Západ a Stred sa však šunka firmy Východ umiestnila na treťom mieste s najnižším percentom proteínov. Z výsledkov vyplýva, že najvyšší obsah bielkovín bol v dusenej šunke firmy Západ. Ani jedna vzorka neobsahovala množstvo bielkovín požadované Codex Alimentarius.

Na základe analýzy zastúpenia jednotlivých aminokyselín, sa však ako nutrične najkvalitnejšia ukázala dusená strojová šunka firmy Stred s najvyšším obsahom esenciálnych aminokyselín a čistých svalových bielkovín. V šunke firmy Západ bol preukázaný prídavok väziva alebo použitie nesprávne opracovanej suroviny, čo ju z nutričného hľadiska zaradilo na druhé miesto za šunku firmy Stred. Z nutričného hľadiska bola najmenej atraktívna šunka firmy Východ.

Obsah bielkovín bol vyjadrený aj pomerom voda : celkové bielkoviny. Hodnota tohto pomeru je presne stanovená Potravinovým kódexom Slovenskej republiky pre dusenú šunku rovnako ako aj všeobecne pre tepelne opracované solené mäsá, čo umožnilo vyhodnotiť zastúpenie bielkovín a vody vo vzorkách aj z tohto hľadiska. Z obrázkov vidno, že v dôsledku nízkeho obsahu bielkovín a vyššieho obsahu vody je pomer voda : celkové bielkoviny u všetkých analyzovaných vzoriek vyšší ako je maximálna hodnota povolená Potravinovým kódexom. Najlepšie výsledky dosiahla aj v tomto ohľade dusená šunka firmy Západ. Aj tu je však nutné konštatovať prekročenie povoleného limitu.

Najvyššie prípustné množstvo polyfosfátov v mäsových výrobkoch bolo stanovené Potravinovým kódexom na 5000 mg/kg po prepočítaní na P2O5. [2] Z analyzovaných vzoriek bola na tejto hornej hranici šunka firmy Západ. Ostatné dve analyzované šunky prekračovali povolený limit. Codex Alimentarius stanovuje najvyššie prípustné množstvo fosfátov 8000 mg/kg po prepočítaní na P2O5 a najvyššie prípustné množstvo pridaných fosfátov na 3000 mg/kg po prepočítaní na P2O5. [3] Celkový obsah fosfátov nebol prekročený ani u jednej z analyzovaných vzoriek. Limit na obsah pridaných fosfátov spĺňala len šunka firmy Západ.

Limity stanovené v Codex Alimentarius však nie sú pre výrobcov predpisom. Predpisom pre výrobcov sú limity Potravinového kódexu Slovenskej republiky.

Najmenej vody, približne 74 %, obsahovala šunka Západ. Obsah vody v ostatných dvoch šunkách bol okolo 79 %. Tieto hodnoty korelujú s obsahom fosfátov v jednotlivých šunkách. Čím vyšší obsah fosfátov, tým vyšší obsah vody a s tým spojený nižší obsah bielkovín.

LITERATÚRA

[1] Maso [online]. Fosfáty při výrobě měkkých salámů [5. marca 2002]. Dostupné na World Wide Web: <http://www.maso.cz/aktual/a40.htm>.

[2] Vestník – Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č.981/1996-100 z 20. mája 1996, ktorým sa vydáva prvá časť a prvá, druhá a tretia hlava druhej časti Potravinového kódexu Slovenskej republiky. s.218- 276.

[3] Codex Alimentarius - Meat and meat products including soups and broths. 2. vyd. Rím, FAO/WHO 1993. 222 s.

[4] Bartůněk, M.; Daňhelka, T.: Jak používat fosfáty v masné výrobě. Maso, 7, 1996, č.2, s.19-20.

[5] STN 57 7035 Dusená šunka – norma akosti. 1993.

[6] THN – Dusená šunka. 1988. Zodpovedá ČSN 57 6099 „Mäsové výrobky. Spoločné ustanovenie.“ a ČSN 57 7035 „Dusená šunka“.

[7] Vestník – Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky, Piata hlava – Mäsové výrobky a jedlé tuky živočíšneho pôvodu. Schválený návrh zákona, 40 s.

[8] Príbela, A.: Analýza potravín – cvičenie. 1. vyd. Bratislava, ES SVŠT 1987. 394 s.

[9] Firemná literatúra – príručka na obsluhu. Firma Tecator AB, Höganäs, Švédsko: 2000 Digestion system. 1989, s.89.

[10] Suhaj, M.; Kováč, M.: Metódy identifikácie falšovania a autentifikácie potravín. Bulletin potravinárskeho výskumu, 39, 2000, č.4, s.241-254.

[11] Benko, M.: Stanovenie aminokyselín vo vybraných mäsových výrobkoch. /Diplomová práca/. Bratislava 2002. 80 s. STU - FCHPT.

[12] Šoltýsová, J. - Staruch, L.: Význam a kontrola polyfosfátov v potravinách. In: Zborník prednášok z XIII. Medzinárodnej konferencie o analytických metódach v potravinárstve „Laboralim 2001“. Banská Bystrica 7. – 8. februára 2001. Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV, Bratislava 2001. s. 311- 314, ISBN 80-227-1524-7.

STANOVENÍ SÓJOVÝCH ISOFLAVONŮ V MASOVÝCH VÝROBCÍCH METODOU HPLC

Vránová D., Fiala D., Drdák M.
Ústav chemie potravin a biotechnologií, Fakulta chemická VUT, Purkyňova 118, 612 00 Brno

Úvod

Sójové proteiny jsou přidávány k masným výrobkům pro zlepšení jejich textury a pro jejich schopnost vázat vodu a tuky. Jejich obsah v mastných výrobcích by podle normy ČSN 57 00801 neměl přesahovat 4 %.

Látky, pomocí kterých můžeme identifikovat druhový původ masa, či přídavek jiných bílkovin použitých při výrobě masných výrobků(bílkoviny vajec, mléka sóji,..) jsou nukleové kyseliny bílkoviny a tuky. Některé metody využívají skutečnosti, že rostlinná pletiva obsahují řadu látek, které se nenacházejí v živočišné tkáni (lektinová DNA, fytoestrogeny)

Analýza bílkovin se opírá o rozpustné bílkoviny, které je možné extrahovat z masových výrobků. Detekční metody se dělí do dvou skupin

- fyzikálně – chemické (elektroforetické a chromatografické)
- imunologické (ELISA, imunoblotting,..)

Mezi charakteristické látky, které se vyskytují v sójových bobech patří fytoestrogeny, jejichž zástupci jsou isoflavony daidzein a genistein. Isoflavony je tedy možné využít jako markery přítomnosti sójových aditiv v potravinách.

Cílem práce bylo vypracování vhodného postupu přípravy vzorků ke stanovení sojových isoflavonů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP-HPLC). Optimalizace metody s sebou přinášela řadu problémů,z nichž největším je účinný extrakční postup a zakoncentrování vzorku. Navržený postup byl testován na připravených modelových vzorcích mas s různým obsahem sójových proteinů a následně na reálných vzorcích (různé typy párků).

Příprava vzorků k analýze

(viz. Schéma 1)

1) Homogenizace

Modelové vzorky byly připraveny smícháním masa hovězího a vepřového v poměru 1:2 , důkladně rozemlety a zahřívány po dobu 10 min při 70^0C. K těmto vzorkům byly přidávány různé koncentrace sójového isolátu (Supro) a vnitřní standard. Reálné vzorky byly pouze důkladně rozemlety a přidán vnitřní standard.

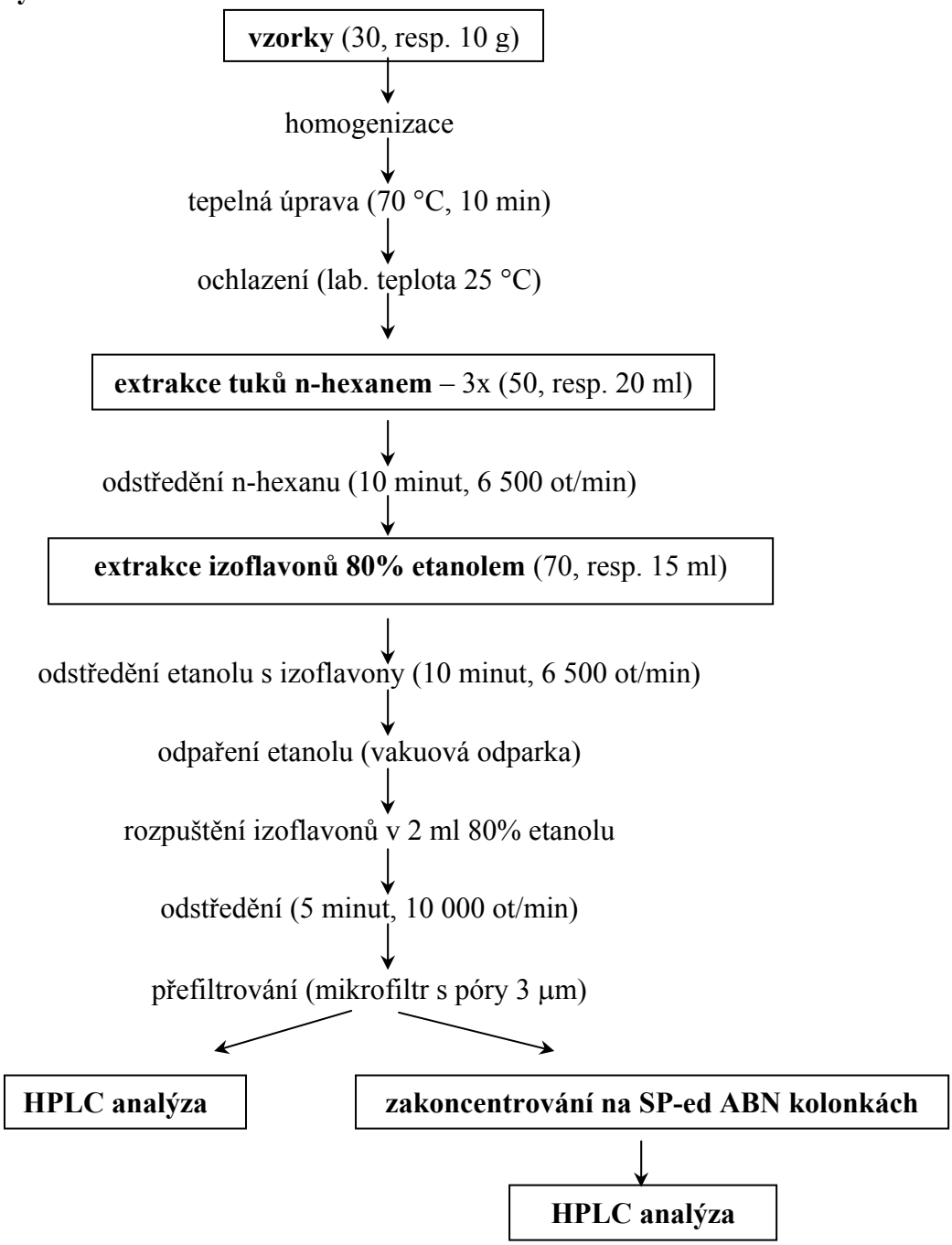
2) Extrakce tuků

Tuky byly ze vzorků extrahovány n-hexanem za intenzivního třepání 20min. Tento postup byl 3x opakován .

3) Extrakce isoflavonů

Sójové isoflavony byly ze vzorků izolovány extrakcí do 80% etanolu 20min za intenzivního třepání. Takto připravené vzorky byly zakoncentrovány na SPE-ed ABN kolonách.

Schéma přípravy vzorků

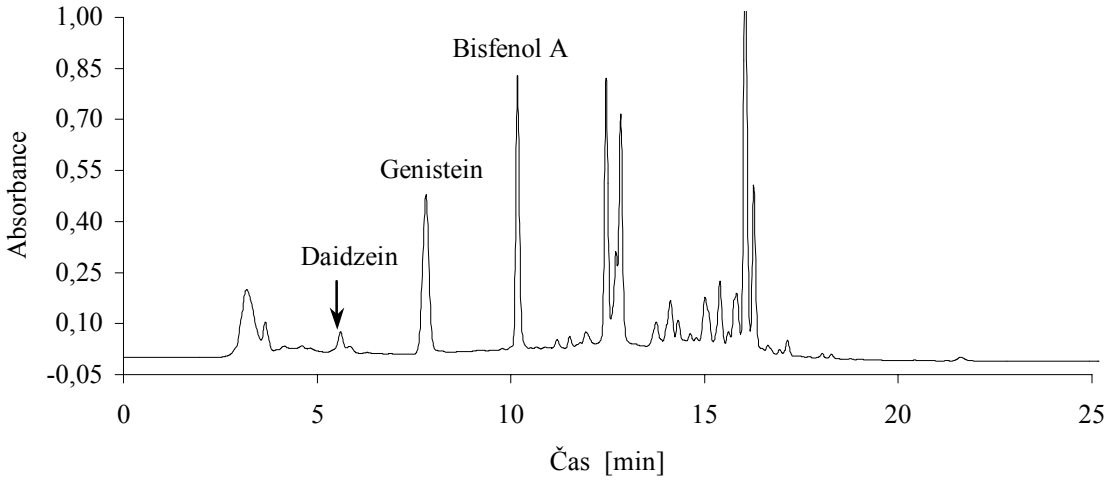


<u>Chromatografická analýza</u>

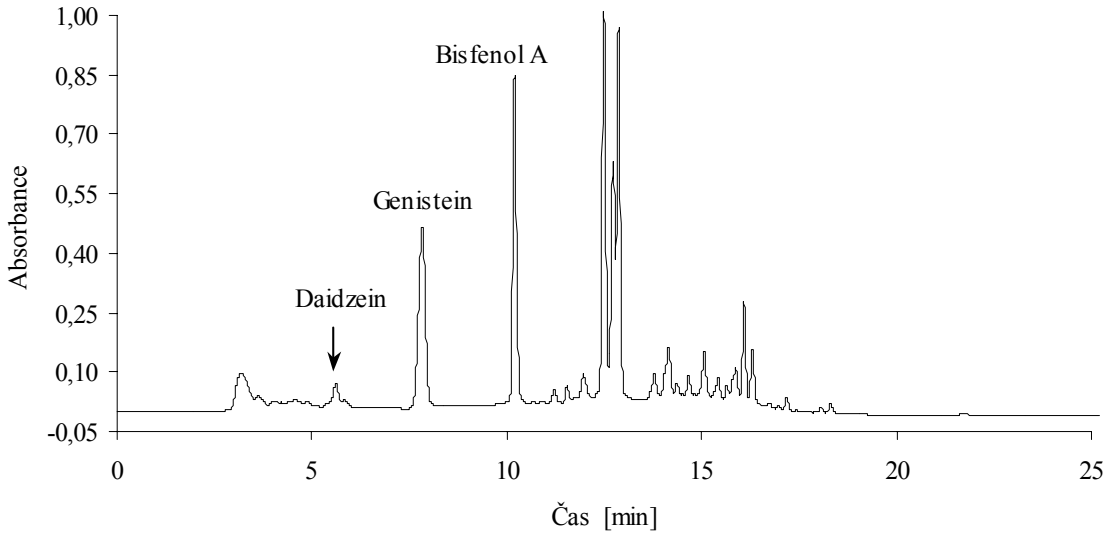
Obsah isoflavonů v analyzovaných vzorcích byl stanoven metodou RP-HPLC s gradientovou elucí za použití vnitřního standardu bisfenolu A. Dělení probíhalo na koloně SUPELCOSIL-LC –18-DB,250x4,6 mm, 5μm . Použité mobilní fáze: (A) 99,9% acetonitril, (B) 10% kyselina octová. Průběh nastaveného gradientu byl: 35-100% (A) 0-10 min;100% (A) 10-20 min;35% (A) 20-30 min. Detekce probíhala v UV oblasti při 260 nm.

Chromatografické křivky reálných vzorků

Párky



Kuřecí párky



Průměrné hodnoty ploch píků genisteinu v jednotlivých reálných vzorcích byly přepočítány podle vnitřního standardu bisfenolu A. Výpočet obsahu sójového aditiva (Supro) v reálných vzorcích byl proveden pomocí rovnice kalibrační křivky genisteinu Výsledky výpočtů jsou uvedeny v tabulce.

Rovnice kalibrační křivky genisteinu: $y = 0{,}7261 \cdot 10^6 x$

Výpočet obsahu Supra v reálných vzorcích

Reálný vzorek	Přepočítaná plocha píku genisteinu	Vypočítané množství Supra [%]
Párky	5 510 602	7,6
Jemné párky	6 276 286	8,6
Kuřecí párky	5 721 351	7,9
Špekáčky	576 291	0,8

Závěry

1) Byl navržen a optimalizován extrakční postup pro přípravu vzorků k HPLC analýze.
2) Bylo ověřeno, že zvýšený podíl tuků ve vzorku ani delší doba jeho zahřívání nemají vliv na následnou extrakci isoflavonů .
3) Byla provedena optimalizace postupu chromatografické analýzy (nastavení vhodné vlnové délky, gradientu a doby dělení).
4) Pro dané podmínky byl vybrán vhodný vnitřní standard –bisfenol A.
5) Bylo zjištěno, že navrženým postupem je možné stanovit 0,1 % přídavek sójového aditiva. Kalibrační graf je lineární v rozsahu koncentrací, které odpovídají přídavku 0,1 –10 % sójového aditiva.
6) V rámci ověření metody byly analyzovány 4 druhy tepelně opracovaných masných výrobků (párků).

Literatura:

1. Franke A.A.,Custer L.J., Wang W., Yang Shi Ch., HPLC Analysis of isoflavonoids and Other Phenolic Agents from Foods and from Human Fluids, *Society for Experimental Biology and Medicine* 37,263-273 (1998)
2. Franke A.A.,Custer L.J.,Cerna C.M.,Narala K.K., Qantitation of Phytoestrogens in Legumes by HPLC,*J, Agric. Food Chem.* 9, 1905-1912 (1994)
3. Liggins J., Bluck L. J. C.,Coward W.A., Bingham A., Extraction and Qantification of Daidzein and Genistein in Food, *Analytical Biochemistry* 264,1-7 (1998)
4. Fukutake M., Takahashi M.,Ishida K., Kawamura H.,Sugimura T., Quantification of Genistein and Soybean Products, *Food and Chemical Toxicology* 34, 457-461 (1998)
5. Careri M.,Elviri L., Mangia A., Validation of a High-Performance Liqid Chromatografic Method for Determination of Isoflavonoids in Soybeans.Study of the Extraction Procedure by Experimental Design, *Chromatographia* 54, 45-50 (2001)

KVANTITATIVNÍ ANALÝZY MLÉKA NIR SPEKTROMETREM

Šustová K., Jankovská R.
Ústav technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Abstract

The traditional methods for determining the quality of milk and the major composition of milk are slow and expensive. Near-infrared spectroscopy of foodstuffs is a relatively recent technique. Analyses are speed and samples does not require pre-treatment either. In this work were determined the major components (total solids, fat, lactose, protein, casein, urea nitrogen and somatic cells) in cow milk by near-infrared spectroscopy. Fifty calibration samples of milk were analysed by reference methods and by FT NIR firm Nicolet in reflectance mode in the wavelength range from 4000 to 10 000 cm^{1} with 100 scan. Each of samples were analysed three times and for calibration were used average spectrum. Partial least squares (PLS) regression was used to develop calibration models for examined milk components. Construct calibration models were validating by full cross validation.

Key words: NIR spectroscopy; Cow milk; Fat; Protein; Chemical composition.

Úvod

Spektroskopie v NIR oblasti (blízká infračervená oblast) poskytuje širokou škálu aplikací v kontrole jakosti potravinářských surovin, meziproduktů i finálních výrobků. V mlékařství se využívá NIR analýz u celé řady meziproduktů a produktů, běžně např. jako rychlé analytické metody při kontrole výroby jogurtů, tavených sýrů a tvarohů, především pro stanovení jejich sušiny, obsahu bílkovin a tučnosti (RODRIGUEZ-OTERO, J.L., 1997, RU, Y. J., GLATZ, P. C., 2000). Vzorek není nutné převádět do roztoku jako při využití jiných metod stanovení obsahu základních složek, což umožňuje rychle analyzovat poměrně velké množství vzorků a případně operativně zasáhnout do technologie výroby. Využití nachází tato technika ve stále větší míře také při kontrole výroby sušeného mléka, másla a použitelná je i při analýzách mléka, především opět ke kontrole obsahu sušiny, tuku, bílkovin a laktosy. V případě stanovování obsahových složek ve vzorcích je nutné provést přesnou kalibraci NIR spektrometru pomocí vhodného souboru kalibračních standardů o známém složení pomocí vhodných analytických metod. Kalibračních vzorků by mělo být nejméně 30 a měly by pokrývat celý koncentrační rozsah.

Naše práce se zabývala možností stanovení obsahu jednotlivých složek kravského mléka, tedy především obsahu sušiny, tuku, celkových bílkovin, kaseinu, laktózy, močovinového dusíku a somatických buněk.

Materiál a metody

Ke kalibraci byly použity vzorky mléka, u kterých byly jednotlivé sledované složky stanoveny referenčími metodami. Vzorky mléka byly souběžně proměřeny na přístroji FT NIR fy Nicolet ve spektrálním rozsahu 10 000 – 4000 cm^{-1} se 100 scany a časem snímání jednoho spektra ~ 1,5 min. IR spektra byla měřena na integrační sféře v režimu reflektance (technika měřící absorpci záření po odrazu paprsku od povrchu vzorku, který byl umístěn v Petriho misce a měřící prostor vymezen zrcátkem). Každý vzorek byl proměřen třikrát a pro kalibraci bylo použito průměrné spektrum. Vytvořené kalibrační modely pro jednotlivé složky mléka byly ověřeny křížovou validací (full cross validation). Pro vytvoření validačního modelu byla použita stejná sada vzorků jako pro kalibraci.

Referenční metody

V chemické laboratoři Ústavu technologie potravin byl u vzorků mléka stanovován obsah sušiny vážkovou metodou bez použití písku při teplotě 102 ± 1°C. Obsah tuku byl stanovován

acidobutyrometricky metodou podle Gerbera podle ČSN 57 0530. Bílkoviny byly stanoveny na přístroji PRO-MILK Mk-II dánské firmy Foss Elektric na základě interakce bílkoviny s amidočerní 10B. Po vysrážení kaseinu byl stanoven stejným způsobem obsah syrovátkových bílkovin a obsah kaseinu byl dopočítán (Gajdůšek, 1997). Močovinový dusík byl stanovován spektrofotometricky metodou s p-dimethylaminobenzaldehydem v mg/100 ml (GAJDŮŠEK a kol., 1996). Laktóza byla stanovena polarimetricky. Počet somatických buněk byl proměřen na přístroji FOSSOMATIC firmy Foss Elektric.

Výsledky

Tabulka I : Kalibrační a validační výsledky stanovení jednotlivých složek mléka

Kalibrovaná složka	**N**	**Průměrná hodnota**	**Počet PLS faktorů**	**Úpravy spekter před hodnocením**
Bílkoviny (%)	60	3,30	14	Žádné
Tuk (%)	56	4,16	4	Žádné
Sušina (%)	50	12,64	6	Žádné
Kasein (%)	57	2,62	10	Žádné
Laktóza (%)	56	4,91	11	Žádné
Moč. dusík (mg/100ml)	52	11,19	2	Žádné
Somatic. buňky (10^3/1ml)	45	244,8	2	Žádné

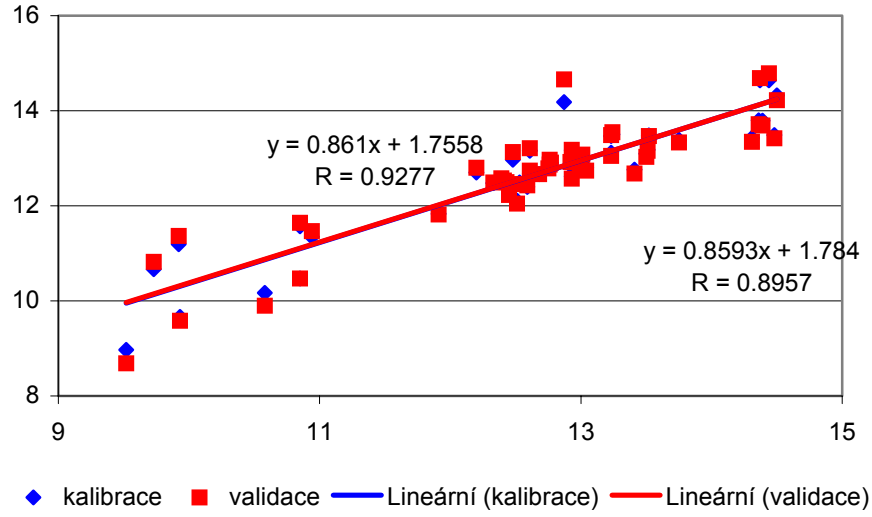
Kalibrace

Kalibrovaná složka	**R**	SEC	**CCV (%)**	**LR y=bx + a**
Bílkoviny (%)	0,9848	0,05	1,37	y=0,9711x + 0,0954
Tuk (%)	0,9612	0,30	7,21	y=0,9233x + 0,3194
Sušina (%)	0,9277	0,46	3,64	y=0,8610x + 1,7558
Kasein (%)	0,9319	0,09	3,44	y=0,8689x + 0,3441
Laktóza (%)	0,9307	0,08	1,63	y=0,8664x + 0,6554
Moč. dusík (mg/100ml)	0,9058	1,63	14,57	y=0,8204x + 2,0099
Somatic. buňky (10^3/1ml)	0,8720	65,21	26,64	y=0,7604x + 58,682

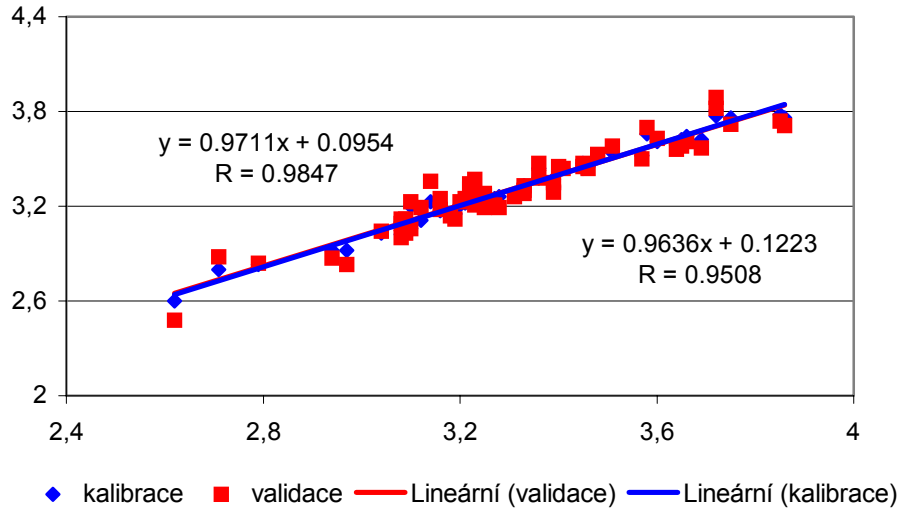
Křížová validace

Kalibrovaná složka	**R**	**SEP**	**PCV (%)**	**LR y=bx + a**
Bílkoviny (%)	0,9504	0,08	2,42	y=0,9636x + 0,1223
Tuk (%)	0,9534	0,33	7,93	y=0,9186x + 0,3359
Sušina (%)	0,8958	0,55	4,35	y=0,8593x + 1,7840
Kasein (%)	0,8508	0,13	4,96	y=0,7691x + 0,6014
Laktóza (%)	0,7498	0,15	3,05	y=0,6772x + 1,5836
Moč. dusík (mg/100ml)	0,8251	2,18	19,48	y=0,6546x + 3,8266
Somatic. buňky (10^3/1ml)	0,8538	69,51	28,39	y=0,7570x + 59,160

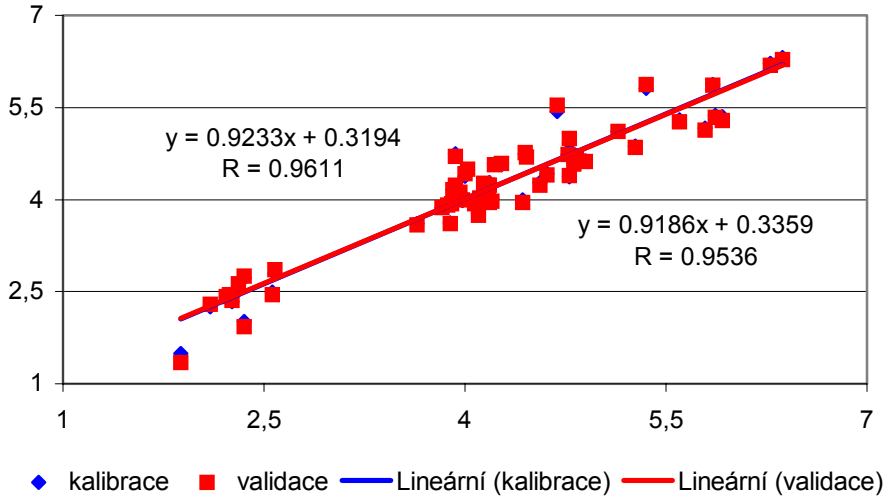
R – korelační koeficient
SEC – směrodatná odchylka kalibrace
SEP – směrodatná odchylka validace
N – celkový počet vzorků
LR – lineárně regresní závislost výsledků NIR metody na výsledcích referenční metody
a – koeficient regresní přímky
b – koeficient regresní přímky
y = bx + a – regresní přímka
CCV – kalibrační variační koeficient
PCV – predikční variační koeficient



Graf 1: Kalibrační a validační výsledky sušiny



Graf 2: Kalibrační a validační výsledky celkových bílkovin



Graf 3: Kalibrační a validační výsledky tuku

Pro vytvoření kalibračního modelu bylo použito 60 vzorků pro bílkoviny, 56 vzorků pro tuk, 50 vzorků pro sušinu, 57 pro kasein, 56 pro laktózu, 52 pro močovinový dusík a 45 vzorků pro somatické buňky. Pomocí diagnostického nástroje (spectrum outlier) byly odstraněny odlehlé vzorky, u kterých byla nepřesně stanovena referenční hodnota nebo se objevila odchylka ve změřeném spektru. Kalibrační model byl vytvořen pomocí PLS algoritmu (metoda částečných nejmenších čtverců). PLS faktory použité v kalibračním modelu zahrnují spektrální a současně koncentrační informaci. Závislost PRESS na počtu faktorů použitých ke kalibraci komponent PLS metody je důležitým diagnostickým nástrojem a umožňuje odhadnout optimální počet faktorů.

Při optimálním průběhu PRESS dochází k prudkému poklesu a další pokles je pozvolný. Je zřejmé, že optimální počet PLS faktorů bude nalezen tehdy, jestliže hodnota PRESS bude minimální. Vysoký počet PLS faktorů snižuje schopnost predikce, protože PRESS zahrnuje i spektrální šum.

Korelační koeficienty (R) jsou: pro sušinu 0,9277, pro bílkoviny 0,9848, pro tuk 0,9612, pro kasein 0,9319, pro laktózu 0,9307, pro močovinový dusík 0,9058, pro somatické buňky 0,8720. Směrodatné odchylky kalibrace (SEC) jsou 0,05; 0,30; 0,46; 0,09; 0,08; 1,63; a 65,21. Pro vytvoření validačního modelu metodou křížové validace byla použita stejná sada vzorků jako pro kalibraci. Validace ověřuje spolehlivost kalibračního modelu a je charakterizována směrodatnou odchylkou validace (SEP), jejíž hodnoty jsou 0,08; 0,33; 0,55; 0,13; 0,15; 2,18 a 69,51.

Za velmi spolehlivou kalibraci je předpokládaná hodnota kalibračního variačního koeficientu CCV pod 5 % a hodnota predikčního variačního koeficientu PCV pod 10 %. Pro všechny složky kromě močovinového dusíku a somatických buněk se hodnota kalibračních variačních koeficientů CCV pohybuje pod 5 %. Taktéž hodnoty predikčních variačních koeficientů u těchto složek přesahují hranici 10 %. Zřejmě je to způsobeno užším rozptýlením těchto hodnot, což může negativně ovlivňovat spolehlivost vytvořených modelů. K vyšší chybě stanovení přispívá i nepřesnost stanovení referenčních hodnot.

Závěr

Zhodnocení výsledků bylo provedeno na základě korelace mezi referenčními a hodnotami vypočtenými z kalibračních rovnic a na základě směrodatných odchylek kalibrace a validace (SEC, SEP). Korelační koeficienty se přibližují 1, což je pro použitelnost modelu nejvhodnější. Výsledky poukázaly na možnost stanovení základních složek mléka v blízké infračervené oblasti. Z této práce vyplývá, že NIR metodou je možné stanovit jednotlivé složky mléka na základě přesných referenčních metod, k čemuž je potřeba NIR přístroj nakalibrovaný na příslušnou složku. Tyto pokusy jsou prvními informacemi ověřování možnosti využití NIR spektrometrie k hodnocení složení mléka.

Použitá literatura

RODRIGUEZ-OTERO, J.L., HERMIDA, M., CENTENO, J. Analysis of Dairy Products by Near-Infrared Spectroscopy: A Rewiew. J. of Agric. Food Chem., 1997, 45, 8, p. 2815–2818.
RU, Y. J., GLATZ, P. C., Asian-Aus. J. Anim. Sci., 2000, 13, 7, p. 1017–1025.
ČSN 57 0530 Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků,1974.
GAJDŮŠEK, S., JELÍNEK, P., HAMPL, A. Somatoc cell counts in goat milk and their relation to milk composition and properties. Živoč. Výr., 1996, 41, s. 25-31.
GAJDŮŠEK, S. Mlékařství – návody do cvičení II., 1. vyd., Brno : MZLU,1997, 84s.

S podporou výzkumného záměru č. MSM 432100001.

NUTRIČNÍ HODNOCENÍ MÉNĚ ZNÁMÝCH DRUHŮ PŠENICE (DVOULETÉ SLEDOVÁNÍ)

Gabrovská D.[1], Fiedlerová V.[1], Holasová M.[1], Mašková E.[1], Rysová J.[1], Ouhrabková J.[1], Winterová R.[1], Michalová A.[2]

1 - Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10; d.gabrovska@vupp.cz; http://www.vupp.cz

2 - Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6;michalova@genbank.vurv.cz; http://www.vurv.cz

Úvod

Náplní prezentované práce bylo nutričně zhodnotit méně často v ČR pěstované (nebo zatím vůbec nepěstované) druhy pšenice. Zájem o tyto druhy pšenice vzešel jednak ze strany zemědělců v marginálních oblastech a jednak je dán i stoupající spotřebou výrobků zdravé výživy po roce 1990. Hodnoceny byly tyto druhy pšenice: pšenice špalda (*Triticum spelta L.*), pšenice jednozrnka (*Triticum monococcum L.*) a pšenice dvouzrnka (*Triticum dicoccum Schuebl.(Schrank)).* Od každého druhu byly vybrány 2 odrůdy, které jsou vhodné pro pěstování v našich klimatických podmínkách.

Pšenice špalda je označována jako stará evropská kulturní pšenice. V současné době je pěstována v západní Evropě – Rakousko, Švýcarsko, Německo, Belgie a severní Španělsko. V ČR došlo k její renesanci zásluhou firmy Pro-Bio, obch.spol. s r.o.. V současné době je pěstována na ploše přibližně 600 ha. Tento druh má nízké nároky na pěstování, hodí se do podhorských oblastí s chudými půdami a nadbytkem srážek. Zpracování špaldy na potravinářské výrobky má největší tradici v německy hovořících zemích. Na našem trhu se můžeme setkat s řadou výrobků, např. špaldové kernoto, špaldové vločky, palačinky, pukance, špaldový křehký chléb apod.(Stehno et al.,1996; Moudrý et al, 1996; Reddy et al.,1998).

Pšenice dvouzrnka byla pěstována v primitivním zemědělství a postupně byla nahrazována produktivnějšími pšenicemi. Její velmi omezené pěstování přežívá do současné doby v Pyrenejích, Alpách, na Balkáně či Zakavkazsku. Na pomezí Moravy a Slovenska byla na malých parcelách pěstována ještě v 70.letech 20.století. Pěstování pšenice jednozrnky bylo v minulosti rozšířeno v mnohých oblastech Evropy a v některých oblastech se dochovalo až do počátku 20.století. V současné době je pěstována v marginálních oblastech Balkánu, Itálie, Španělska a Německa. Cenná je její odolnost proti některým chorobám. Literární údaje uvádějí vyšší obsah lysinu, popela a karotenoidů a vyšší výtěžek bílkovin na hektar. Jednozrnka je využívána při přípravě vysoce hodnotných potravinářských výrobků bohatých na bílkoviny a. ke krmení hospodářských zvířat (D'Egidio et al., 1993; D'Egidio et al., 1995).

Materiál a metody

Vzorky pšenice byly získány od firmy Pro-Bio, obch.spol.s r.o. a jednalo se o tyto genotypy: pšenice špalda RUBIOTA, pšenice špalda OSTRO, pšenice jednozrnka No.8029, pšenice jednozrnka Tábor, pšenice dvouzrnka Vrbovce, pšenice dvouzrnka Szeged. Jednalo se o sklizeň roku 2000 a 2001.

Vzorky byly umlety na laboratorním mlýnku (Fritsch rotor speed mill, síto 5 μm) a analyzovány.

Obsah sušiny byl stanoven gravimetricky (sušení do konstantní hmotnosti při 105°C), obsah popela byl stanoven mineralizací na suché cestě (520°C), obsah tuku metodou podle

Soxhleta po kyselé hydrolýze. Enzymogravimetrická metoda byla použita pro stanovení obsahu vlákniny a metoda podle Kjeldahla pro stanovení obsahu bílkovin.

Obsah jednotlivých vitaminů byl stanoven různými metodami: RP-HPLC byla použita pro stanovení thiaminu a tokoferolů , mikrobiologické metody byly použity pro stanovení niacinu, kyseliny pantothenové a vitaminu B6. Vitamin C byl stanoven titrační metodou, karotenoidy spektrofotometricky a riboflavin lumiflavinovou metodou. Obsah mastných kyselin byl stanoven plynovou chromatografií. Plamenová AAS byla použita pro stanovení minerálních látek s výjimkou fosforu (spektrofotometrická metoda). Zastoupení aminokyselin bylo stanoveno metodou ionexové chromatografie.

Výsledky a diskuse

Základní složení (obsah sušiny, bílkovin, popela a vlákniny) nevykázalo výrazné rozdíly mezi jednotlivými druhy a genotypy, ani mezi roky pěstování (graf č.1). Obsah bílkovin dosahuje u většiny hodnocených obilnin 20 g/100 g sušiny. Obsah tuku se pohybuje v rozmezí 3,2 – 4,7 g/100 g sušiny, obsah popela 2,0 – 2,5 g /100 g sušiny a vlákniny 9,2 – 12,0 g/100 g sušiny. Hodnoty minerálních látek odpovídají literárním údajům; vyšší hodnoty byly nalezeny u obou jednozrnek v roce 2001 v případě Zn, Fe a Mn. Obsah Na byl poměrně vysoký u dvouzrnky Szeged v roce 2000. Za poměrně bohatý zdroj karotenoidů lze označit pšenici jednozrnku (obsah karotenoidů 0,7 – 0,9 mg/100 g sušiny); vyšší hodnota niacinu byla nalezena u dvouzrnky Szeged (až 9 mg/100 g sušiny). Ostatní vitaminy nevykázaly statisticky významné rozdíly. Jako lepší zdroj esenciálních aminokyselin je možné označit pšenice jednozrnky a dvouzrnku Szeged. Esenciální mastné kyseliny zachovávají stejné obsahy jak v případě kyseliny linolové tak v případě kyseliny linolenové.

Závěrem je možné konstatovat, že hodnocené pšenice nevykázaly z hlediska nutričních faktorů významné rozdíly v druzích či genotypech. V případě posuzování jednotlivých faktorů je možné nalézt vyšší hodnoty některých faktorů, jak bylo uvedeno. Výrobky z hodnocených obilovin jsou dostupné v obchodní síti, většinou se jedná o výrobky ekologického zemědělství a jejich sortiment je dále rozšiřován.

Literatura:

Stehno, Z., Vlasák,M. Pěstování pšenice špaldy a pšenice dvouzrnky;jejich význam v lidské výživě.Sborník semináře "*Alternativní a maloobjemové plodiny pro zdravou lidskou výživu",* VÚRV Praha – Ruzyně, 12.11.1996

Moudrý, J., Strašil, Z. *Alternativní plodiny,* Jihočeská univerzita, zemědělská fakulta, České Budějovice, 1996

D´Egidio, M.G., Nardi,S., Vallega,V.Grain, Flour, and Dough Characteristics of Selected Strains of Diploid Wheat, Triticum monococcum L. , *Cereal Chemistry* 70 (3), 298-303,1993

D´Egidio, M.G., Vallega,V., Acquistucci,R. Amino Acid Composition of of Selected Strains of Diploid Wheat, Triticum monococcum L. , *Cereal Chemistry* 72 (2), 213-216,1995

Reddy,M.M. et al.: Grain and Gluten Quality of some cultivars of Wheat Species and Their Suitability for Preparation of Traditional South Indian Sweet Products. *Journal of Food Science and Technology –India*, 35(5), 441-444,1998

Práce byla financována z projektu NAZV QD 0057.

Tabulka č.1 Základní složení (g/100 g sušiny)

	pšenice špalda OSTRO		pšenice špalda RUBIOTA		pšenice jednozrnka Tábor		pšenice jednozrnka No.8029		pšenice dvouzrnka Szeged		pšenice dvouzrnka Vrbovce	
	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001
popel	2,18	2,00	2,12	2,00	2,46	2,33	2,39	2,40	2,40	2,36	2,21	2,18
tuk	3,36	4,71	3,08	4,10	3,70	4,12	3,73	4,02	3,22	4,00	3,79	4,36
bílkoviny	14,8	14,0	19,0	19,5	19,9	19,7	21,0	19,8	20,0	22,1	15,5	14,0
vláknina	10,3	9,9	11,3	10,7	11,4	12,0	11,3	10,0	9,7	10,1	9,8	9,2

Tabulka č.2 Obsah vitaminů (mg/100 g sušiny)

	pšenice špalda OSTRO		pšenice špalda RUBIOTA		pšenice jednozrnka Tábor		pšenice jednozrnka No.8029		pšenice dvouzrnka Szeged		pšenice dvouzrnka Vrbovce	
	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001
thiamin	0,34	0,34	0,40	0,33	0,40	0,26	0,42	0,28	0,43	0,30	0,24	0,29
riboflavin	0,08	0,10	0,09	0,07	0,10	0,10	0,10	0,14	0,10	0,13	0,10	0,10
niacin	7,4	5,1	5,7	5,2	6,3	5,0	7,3	6,1	8,9	8,6	6,1	6,2
kys. pantothe-nová	0,67	0,72	0,96	0,68	0,52	0,52	0,52	0,43	1,28	1,14	0,89	0,74
vitamin B6	0,40	0,31	0,31	0,31	0,44	0,49	0,45	0,42	0,44	0,41	0,30	0,32
karotenoid y	0,36	0,25	0,27	0,32	0,88	0,71	0,82	0,86	0,20	0,21	0,23	0,20
vitamin E*	1,18	1,25	1,57	1,48	1,59	1,49	1,03	1,38	1,99	1,84	1,98	1,48

*mg alfa-tokoferolekvivalentu/100 g sušiny

Tabulka č.3 Obsah minerálních látek (mg/100 g sušiny)

	pšenice špalda OSTRO		pšenice špalda RUBIOTA		pšenice jednozrnka Tábor		pšenice jednozrnka No.8029		pšenice dvouzrnka Szeged		pšenice dvouzrnka Vrbovce	
	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001
Na	3,26	2,25	5,49	2,99	1,98	3,42	4,41	3,85	7,94	3,22	2,86	1,17
Zn	3,48	3,42	3,92	4,21	4,61	8,67	4,63	7,58	4,47	5,11	4,34	4,47
Fe	3,26	3,64	4,48	4,10	3,18	5,13	4,08	5,54	4,03	5,00	2,74	2,98
Mn	3,15	3,10	3,02	2,77	3,73	4,90	3,97	5,88	3,22	3,78	2,86	3,51
K	315,7	375,4	391,9	397,6	432,5	439,0	423,4	441,2	417,2	461,1	454,9	451,1
Ca	31,5	49,1	28,0	37,1	31,8	55,8	35,3	56,2	29,1	50,2	30,9	43,7
Mg	131,5	131,5	128,8	136,2	143,8	147,1	166,5	148,2	145,4	158,9	147,4	144,7
P	520,2	473,8	497,2	483,9	541,2	540,5	599,8	487,6	578,3	588,9	531,4	529,8

Tabulka č.4 Obsah esenciálních aminokyselin (g/100 g sušiny)

	pšenice špalda OSTRO		pšenice špalda RUBIOTA		pšenice jednozrnka Tábor		pšenice jednozrnka No.8029		pšenice dvouzrnka Szeged		pšenice dvouzrnka Vrbovce	
	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001
valin	0,59	0,46	0,69	0,62	0,71	0,67	0,73	0,79	0,77	0,87	0,55	0,62
leucin	1,00	0,49	1,47	0,72	1,23	0,70	1,29	0,76	1,45	1,47	0,89	0,76
isoleucin	0,60	0,49	0,73	0,72	0,87	0,70	0,88	0,76	0,82	0,83	0,56	0,60
threonin	0,42	0,38	0,55	0,56	0,50	0,51	0,50	0,57	0,58	0,64	0,61	0,44
methionin	0,24	0,18	0,24	0,34	0,32	0,39	0,41	0,41	0,42	0,37	0,20	0,17
lysin	0,42	0,31	0,42	0,37	0,58	0,37	0,51	0,46	0,60	0,56	0,42	0,41
phenylalanin	0,74	0,68	0,91	1,24	1,07	1,47	1,07	0,84	0,80	1,29	0,69	0,69

Tabulka č.5 Obsah esenciálních mastných kyselin (g/100 g tuku)

	pšenice špalda OSTRO		pšenice špalda RUBIOTA		pšenice jednozrnka Tábor		pšenice jednozrnka No.8029		pšenice dvouzrnka Szeged		pšenice dvouzrnka Vrbovce	
	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001	rok 2000	rok 2001
kyselina linolová	55,7	52,9	54,5	51,9	54,0	53,9	53,3	53,5	52,6	54,4	54,3	52,8
kyselina linolenová	3,2	3,7	3,8	3,1	3,6	4,4	3,8	4,7	3,5	4,7	3,7	3,9

NUTRIČNÍ A HOSPODÁŘSKÁ CHARAKTERISTIKA BEZPLUCHÉHO JEČMENE A OVSA

Gabrovská D.[1], Vaculová K.[2], Fiedlerová V.[1], Holasová M.[1], Mašková E.[1], Milotová J.[2], Nedomová L.[2], Ouhrabková J.[1] Rysová J.[1], Winterová R.[1], Michalová A.[3]

1 - Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10,
2 - Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o., Havlíčkova 2787, 76701 Kroměříž,vaculova@vukrom.cz,
3 - Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6

ABSTRAKT

Sortiment bezpluchých genetických zdrojů jarního ječmene (123) s dvouřadým a víceřadým klasem a nahého ovsa setého (63) byl pěstován v podmínkách Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s.r.o. v letech 2000 a 2001. Ječmeny statisticky významně překonávaly ovsy v hospodářských a výnosových charakteristikách (odolnost poléhání, výnos zrna z plochy, relativní výnos ke kontrolní odrůdě, hmotnost 1000 zrn), zatímco v obsahu základních živin (obsah N-látek, tuku a hrubé vlákniny-měřeno metodou NIR) vykazovaly vyšší průměrné hodnoty materiály ovsa. I v rámci souborů bezpluchých obilovin byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi odrůdami, příp. zastoupenými typy obou druhů.

Nutriční charakteristika zrna vybraných vzorků obilovin, získaná na základě podrobných chemických rozborů nových linií bezpluchého ječmene (KM2283, KM1910) a odrůd nahého ovsa (Abel, Izák) ve Výzkumném ústavu potravinářském Praha, svědčí o významné diferenci mezi hodnocenými druhy v obsahu tuku (o 5,21%) a zastoupení mastných kyselin, některých vitaminů (B1, kys. pantothenové, niacinu a vitaminu B6), obsahu vlákniny potravy (o 3,225 g/100 g vzorku u ječmene), absolutním obsahu esenciálních aminokyselin a obsahu některých makro a mikroprvků (vápníku, hořčíku a fosforu).

Porovnání se standardním vzorkem ječných krup ukázalo, že oproti celému zrnu ječmene jsou kroupy ochuzeny nejen o základní živiny, ale zejména o cenné vitaminy a některé minerální látky; neprůkazná diference však byla zjištěna pro podíl jednotlivých esenciálních aminokyselin v N-látkách a zastoupení dílčích mastných kyselin.

Odlišné nutriční a hospodářské charakteristiky bezpluchého ječmene a nahého ovsa predikují jejich rozdílné zastoupení v pěstitelských systémech i cereálních výrobcích.

ÚVOD

Změna vnímání role potravin jako prostředku pro udržení dobrého zdravotního stavu a z toho vyplývající nové výživové trendy se stávají faktorem, který ovlivňuje zemědělskou výrobu i v České republice (Štiková, 2000). Zvýšený zájem spotřebitelů o přírodní zdroje vyššího obsahu některých nutričně významných živin vede k renesanci výroby a zpracování i u minoritních a zapomenutých obilovin jako je bezpluchý ječmen a nahý oves. Na rozdíl od některých vyspělých západních zemí jsou však u nás pro komerční pěstování povoleny pouze odrůdy bezpluchého ovsa a tak se spotřebitelé mohou se zrnem bezpluchých materiálů ječmene setkat pouze sporadicky jako s bioproduktem ekologicky hospodařících farmářů.

Cílem sdělení je prezentovat dílčí výsledky porovnání hospodářských a nutričních charakteristik bezpluchých ječmenů a ovsů, případně porovnat složení zrna vybraných materiálů ječmene s komerčně vyráběnými ječnými kroupami.

MATERIÁL A METODIKA

Rostlinný materiál a vzorky:

Byl hodnocen sortiment bezpluchých genetických zdrojů jarního ječmene (123 dvouřadých a víceřadých materiálů) a nahého ovsa setého (63 materiálů), pěstovaných v polních podmínkách Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s.r.o. v letech 2000-2001. V průběhu obou let byly hodnoceny významné hospodářské znaky a ukazatele(výnos zrna z plochy v t/ha, relativní výnos ke kontrolní odrůdě v %, přičemž pro ječmen byla zvolena odrůda Taiga a pro oves průměr povolených odrůd Abel a Izák, dále hmotnost 1000 zrn v g, podíl zrna na sítě 2,2 x 1,8 mm v % a odolnost poléhání (9=max., resp. 1=min. úroveň znaku). Screening kvality zrna celého sortimentu byl proveden na NIR přístroji Inframatic 9100 a byl měřen obsah základních živin - N-látek, tuku a hrubé vlákniny (vše v %)

Vzorky zrna odrůd bezpluchého ovsa setého (Abel, Izák), nových linií bezpluchého ječmene (KM2283, KM1910) a standardní vzorek krup ze zrna jarního ječmene byly připraveny podrobným chemickým analýzám.

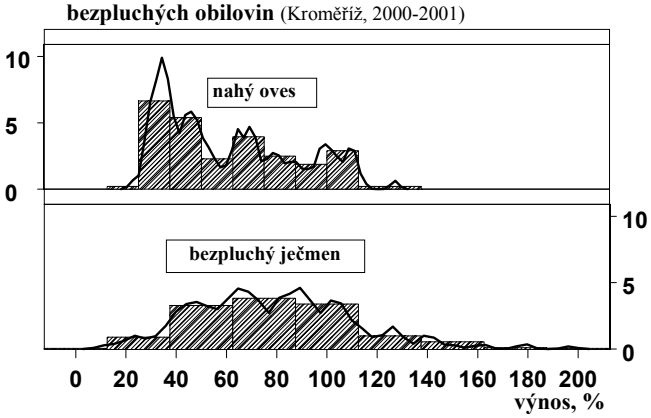
Chemické metodiky a techniky stanovení živin a látek:

Chemické analýzy vzorků (Gabrovská et al., 2001) byly provedeny ve Výzkumném ústavu potravinářském Praha v následujícím rozsahu:

Vitaminy: thiamin-metodou RP-HPLC, riboflavin - lumiflavinovou metodou podle ČSN 56 0054, niacin - mikrobiologickou metodou podle ČSN 56 0051, vitamin B_6- mikrobiologickou metodou v souladu s ČSN 56 0056, kyselina pantothenová - modifikovanou mikrobiologickou metodou podle ČSN 56 0060, vitamin C - titračně v souladu s ČSN/ISO 6567/2, karotenoidy - spektrofotometricky (vše v mg/100 g vzorku), vitamin E - metodou HPLC (mg alfa-tokoferolekvivalentu/100g vzorku),

Základní složení: sušina - gravimetrickou metodou (sušení do konstantní hmotnosti při 105^0C), popel - mineralizací na suché cestě (520^0C), tuk - metodou podle Soxhleta po kyselé hydrolýze, N-látky - metodou podle Kjeldahla, vláknina potravy - enzymogravimetrickou metodou podle standardní metody AOAC, aminokyseliny - ionexovou chromatografií na automatickém analyzátoru aminokyselin (vše v g/100 g vzorku). Byly rovněž stanoveny mastné kyseliny-plynovou chromatografií (g/100 g mastných kyselin), minerální látky - plamenovou AAS a fosfor spektrofotometrickou metodou (mg/100 g vzorku)

Obr. 1
Histogramy relativního výnosu zrna genet. zdrojů bezpluchých obilovin (Kroměříž, 2000-2001)



VÝSLEDKY A DISKUSE

Bezpluché ječmeny, zařazené v kolekci sortimentu genetických zdrojů, statisticky významně překonávaly ovsy ve všech hospodářsky důležitých charakteristikách (výnos zrna z plochy, relativní výnos ke kontrolní bezpluché odrůdě daného druhu -obr.1, hmotnost 1000 zrn, odolnost poléhání); naopak materiály nahého ovsa vykazovaly vyšší průměrné hodnoty obsahu základních živin (obsah N-látek, tuku a hrubé vlákniny - měřeno metodou NIR na přístroji Inframatic 9100 - tab.1). Obdobné výsledky u odlišného sortimentu hodnocených materiálů uvádí řada zahraničních i některých domácích autorů (Saastamoinen, 1988, Vaculová et al., 1998).

Tab. 1

Analýza variance hodnocených hospodářsky významných znaků bezpluchého ječmene a ovsa (Kroměříž, 2000-2001)

znaky	průměrný čtverec	F-test (průkaz.)	jednotky	diference ječmen x oves[1)]
poléhání	19,78	0,07	1-9	-
výnos zrna	20,36	0,003	t/ha	0,487***
relativní výnos [2)]	29369,35	0,000	%	18,5***
hmotnost 1000 zrn	6370,75	0,000	g	8,66***
obsah NL	639,27	0,000	%	-2,38***
obsah tuku	943,57	0,000	%	-3,47***
obsah vlákniny	90,60	0,000	%	-1,08***

[1)] - tab. 1-3 *, **, ***- průkaznost diference při P≤0,05 a P≤0,01, P≤0,001, N = nehodnoceno

[2)] - ve vztahu k bezpluché kontrolní odrůdě (ječmen - Taiga, oves - Abel a Izák),

Jarní bezpluché ječmeny byly zastoupeny různými varietami s 2-řadým i 6-řadým klasem. Dvouřadé genotypy měly lepší odolnost vůči chorobám, v průměru o 18% vyšší výnos zrna (obr.2-viz. poster), vyšší hmotnost 1000 zrn (o 14,1g) a více N-látek i škrobu v sušině zrna. Šestiřadé zdroje vykazovaly naopak vyšší obsah tuku a také hrubé vlákniny (o 2,5%). Lepší

produktivita a nižší nutriční kvalita dvouřadých ječmenů v podmínkách České republiky je podložena víceletými výzkumy (Vaculová a Milotová, 2001a, b).
Obdobně jak uvádějí Andersson et al. (1999) i v našem případě byla stanovena variabilita obsahu základních živin zrna v rámci hodnocené kolekce zdrojů ječmene. Screening metodou měření NIR, potvrdil větší možnost výběru materiálů podle obsahu NL a škrobu, rozsah proměnlivosti obsahu vlákniny a tuku však ukazuje, že v těchto znacích jsou studované materiály vzájemně méně odlišné.
V rámci souboru nahých ovsů byly zjištěny statisticky průkazné vzájemné rozdíly v hodnotách podílu zrna na sítě 1,8 mm a v obsahu všech měřených živin, u ostatních ukazatelů překonala meziročníková variabilita zjištěné diference mezi materiály.
Průměrné hodnoty obsahu základních živin a dalších nutričně významných látek zrna vybraných nových linií bezpluchého ječmene (KM2283, KM1910) v porovnání se složením odrůd nahého ovsa (Abel, Izák) dokumentují tab.2 a tab.3.

Tab. 2
Průměrné hodnoty a průkaznost diference základního složení zrna
a základních mastných kyselin ječmene a ovsa (Kroměříž, 2000-2001)

Druh/látka	popel	tuk	N-látky	vláknina	C16:0	C18:1	C18:2	C18:3
ječmen	1,61	2,67	11,73	10,78	21,1	14,57	53,38	5,49
oves	1,99	7,89	14,06	7,55	17,93	36,89	38,24	1,42
průkaz.[1)]	**	**	N	*	**	**	**	**

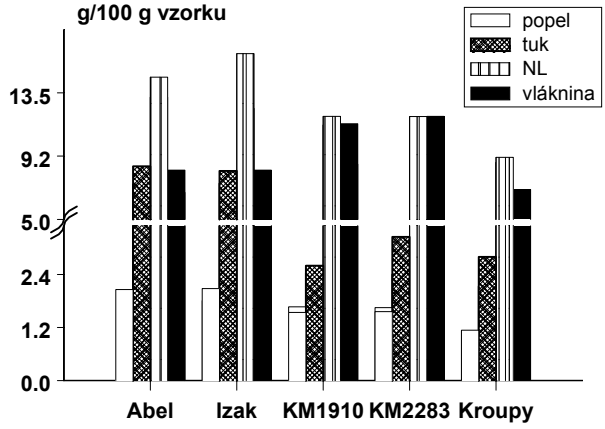
V důsledku vyšší meziročníkové a odrůdové proměnlivosti nebyly nalezeny statisticky významné diference pro obsah N-látek i přesto, že průměrné hodnoty oba druhy celkem zřetelně odlišují. Bezpluchý ječmen má oproti ovsu významně méně popele, tuku (v průměru o 5,21%), vitaminu B1, kyseliny pantothenové a naopak je významnějším zdrojem niacinu (obsahuje v průměru až 7,5 krát více tohoto vitaminu než oves) a vitaminu B6.

Tab. 3
Průměrné hodnoty a průkaznost diference obsahu vitaminů a vybraných minerálních látek
zrna ječmene a ovsa (Kroměříž, 2000-2001)

Druh	vit.B1	vit.B2	niacin	kys. panto-thenová	vit.B6	karote-noidy	vit.E	Ca	Mg	P	Mn
ječmen	0,232	0,077	7,432	0,370	0,398	0,225	1,462	29,8	97,17	468	1,0
oves	0,502	0,094	1,000	0,845	0,181	0,225	1,745	64,2	123,25	353,75	3,8
průkaz.[1)]	**	N	**	**	**	N	N	**	**	**	**

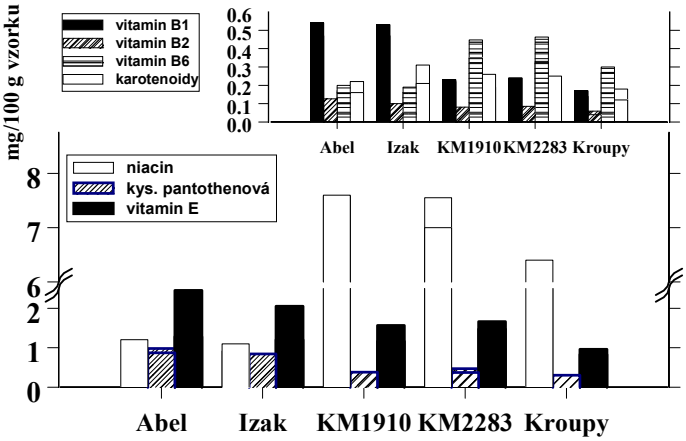
Zajímavá je i diference v obsahu vlákniny potravy, která na rozdíl od hrubé vlákniny svědčí ve prospěch ječného zrna (o 3,225 g/100 g vzorku). Přítomnost vyšší hladiny vlákniny potravy (zejména její rozpustné složky) nabízí možnost vývoje doplňků stravy s perspektivním preventivním zdravotním účinkem (Vaculová, Erban, 2000). Zrno ječmene obsahuje méně minerálních látek než zrno ovsa. Neprůkazné rozdíly byly nalezeny pro mikroprvky s výjimkou manganu, ale zřetelné, statisticky významné rozdíly byly naměřeny pro obsah vápníku, hořčíku (ve prospěch ovsa)a fosforu (ve prospěch ječmene).

Obr. 2
Obsah základních živin v zrně bezpluchých obilovin (oves, ječmen) a ječných krup



Diference v obsahu tuku v zrně ječmene a ovsa doprovází i významně odlišná skladba mastných kyselin. Obdobně jak jsme nalezli pro odlišný soubor studovaných materiálů (Vaculová et al., 1998),tak i v případě výše uvedených vzorků byly zjištěné obdobné závěry. Zatímco v zrně ovsa jsou kyseliny linolová i olejová v přibližně stejném podílu (36,9-38,2 g/100 g mastných kyselin - MK) a obsah kyseliny palmitové je zhruba poloviční (17,9), u ječmene je kyselina linolová dominantní (53,4 g/100 g MK), zastoupení kyseliny palmitové o něco vyšší než u ovsa (21,0) a podíl kyseliny olejové nižší (14,6). Oproti ovsu je příznivý i vyšší obsah další nenasycené MK- kyseliny linolenové (5,49 vs. 1,42 g/100 g MK).

Obr. 3
Obsah vitaminů v zrně bezpluchých obilovin a ječných krup (Abel, Izak - oves, KM2283, KM1910 - ječmen)



I když je známo, že zrno ovsa obsahuje více esenciálních aminokyselin v absolutním množství (Hubík et al., 1994), jejich koncentrace v N-látkách nebyla v rámci studovaných materiálů ječmene a ovsa statisticky odlišná. Na rozdíl od jiných látek zrna však byly významné i dílčí rozdíly v obsahu AK mezi jednotlivými vzorky obilnin téhož druhu , což svědčí o možnosti provádět cílený výběr nutričně hodnotnějších materiálů u bezpluchého ječmene i nahého ovsa.

Porovnání komerčního vzorku ječných krup oproti vzorkům zrna bezpluchého ječmene a ovsa je znázorněno na obr.2 a obr.3. Potvrdilo se, že kroupy jsou oproti celému zrnu ochuzeny nejen o základní živiny (s výjimkou tuku), ale zejména o cenné vitamíny a některé minerální látky, především makroprvky (Na, K, Mg, P). Vzhledem k poklesu obsahu N-látek ve vzorku krup však nedochází k významnějšímu snížení podílu důležitých esenciálních aminokyselin v bílkovinách a rovněž není nižší zastoupení hlavních mastných kyselin. Naopak v případě kyseliny linolové byly dokonce naměřeny vyšší hodnoty než v průměrném vzorku z celého zrna hodnocených bezpluchých ječmenů.

ZÁVĚR

Průkazné rozdíly v hospodářských charakteristikách bezpluchého ječmene oproti ovsu, odlišnosti v nutričním složení jejich zrna a zjištěné diference i vůči komerčně vyráběným ječným kroupám predikují možnost uplatnění tohoto druhu nejen v marginálních, ale i produktivnějších pěstitelských systémech. Jak prokazují zkušenosti ze zahraničí, technologické uplatnění minoritních bezpluchých obilovin lze očekávat nejen v tradičních, ale zejména netradičních pekárenských i dalších cereálních výrobcích (Rysová et al., 2001).

LITERATURA

Andersson, A.A.M., Elfeverson,C., Andersson,R., Regner, S., Aman,P. Chemical and physical characteristics of different barley samples. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79(9), 979 - 986, 1999.
Gabrovská, D., Fiedlerová, V., Holasová M., Mašková E., Smrčinová, H.,Rysová, J., Winterová, R., Michalová A., Hutař, M.: The nutritional evaluation of the underutilized cereals and pseudocereals. 17 th International Congress of Nutrition, Vienna, Austria, 27.8. - 31.8.2001.
Hubík, K., Macháň, F., Tichý, F., Vaculová, K., Váňová, M.: Oves setý (Avena sativa l.). Příručka pro pěstitele. Kroměříž, leden 1994, 32.
Rysová, J.. Vavreinová, S., Nočevová, E. Functional foods based on cereals. 17 th International Congress of Nutrition, Vienna, Austria, 27.8. - 31.8.2001.
Saastamoinen, M.: Genetic and environmental variation in chemical composition of grains in barley and oats. Academic Dissertation, Jokioinen, Finland : 81, 1988
Štiková, O.: Spotřeba potravin a nové výživové trendy jako faktor ovlivňující zemědělskou výrobu. Seminář: "Strategie rozvoje zemědělství a výživy do roku 2010", Ministerstvo zemědělství ČR, Praha, 18.5.2000: 9-17.
Vaculová, K., Ehrenbergerová, J., Macháň, F., Milotová, J., Fialová, M.: Fat Content and Composition in Spring Barley and Oat Grain. Cereals for Human Health and Preventive Nutrition, Proceedings of the International Conference, Brno, Czech Republic, July 7-11, 1998, 249-259. ISBN 80-902545-0-0.
Vaculová, K., Erban, V.: A Complex of Hulless Barley Grain Fractions with Milk Starters for Food Additives Development. Proceedings of the 8th International Barley Genetics Symposium, 22-27. October 2000, Adelaide, Australia, vol. II, Contributed papers: 300-303.
Vaculová, K., Milotová, J.: Diverzita bezpluchého ječmene a možnosti jejího využití. In: Sboník z konference ”Pěstování a využití některých opomíjených a netradičních plodin v ČR”, Praha, VÚRV, 21.03.2001a, 8-14.
Vaculová, K., Milotová, J.: Variabilita bezpluchých genetických zdrojů jarního ječmene z pohledu perspektivního potravinářského využití. Sborník souhrnů sdělení. XXXII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin, Skalský Dvůr, ISBN 80-905671-3-0, květen 2001b: 46-47.

Tato práce byla vypracována za finančního příspěvku projektů NAZV: QD0057, QD0183 a QC1345.

ROZLIŠENÍ ODRŮD SLADOVNICKÉHO JEČMENE METODOU OBRAZOVÉ ANALÝZY

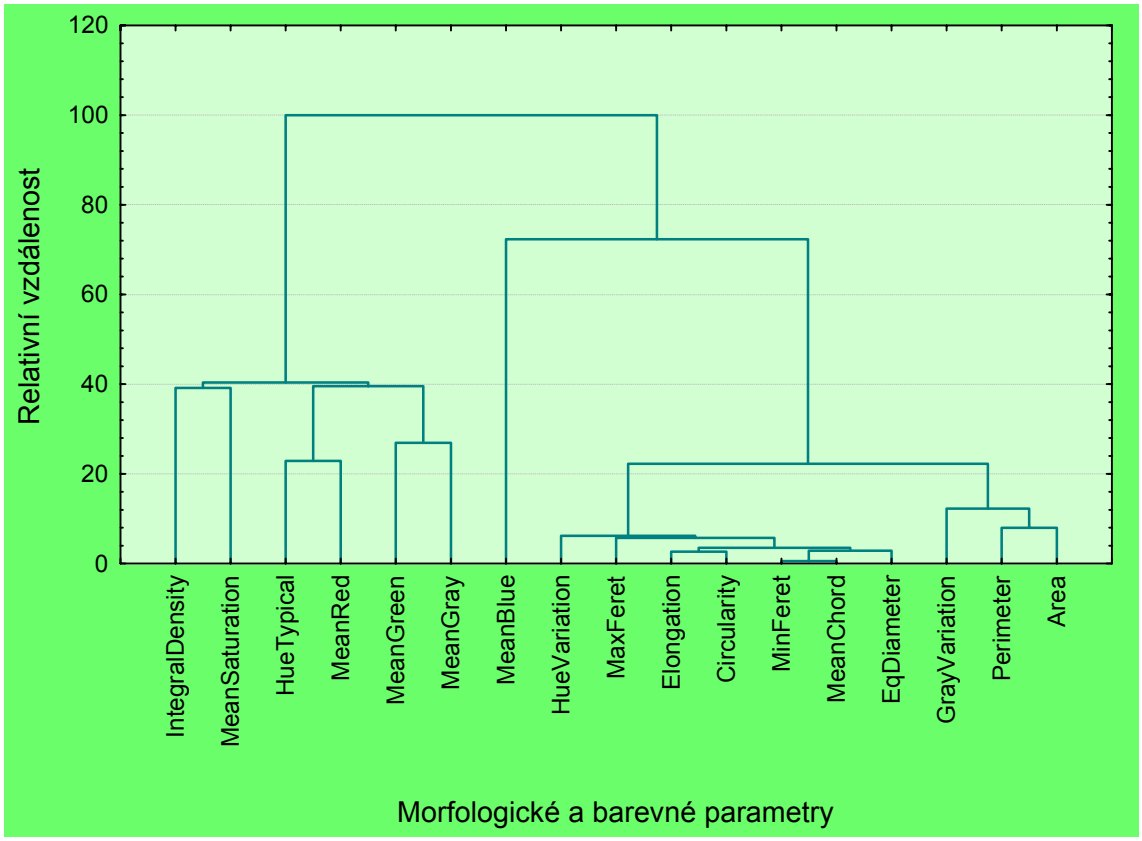
Dobrý J., Pudil F., Grus J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6

Metoda obrazové analýzy spočívá v možnosti objektivního počítačového hodnocení digitalizovaného obrazu vzorku. U snímků s různým stupněm zvětšení je možné přesně měřit vybrané barevné a morfologické charakteristiky, případně vypočítávat speciální strukturní charakteristiky (fraktální dimenzi).
Pro snímání vzorků byla použita televizní kamera Hitachi HV C 20 (Hitachi, Japonsko) a osvětlovací zařízení Kaiser RB 5000 DL (Kaiser, SRN) s definovanými světelnými podmínkami 5000 K. Obraz vzorku byl přenesen do počítače pomocí digitalizační karty Matrox (Matrox, Canada) a zpracován obrazovým analyzátorem LUCIA 3.52a (Laboratory Imaging, ČR). Pro všechny vzorky stejného typu byl použit shodný mikroprogram zahrnující barevné prahování a úpravy binárního obrazu. Ke statistickému zpracování dat byl použit software MS Excel (Microsoft, USA) a Statistica 6.0 (Statsoft, Inc., USA). Pro výpočet fraktální dimenze byl použit software Bendit 1.1 (TruSoft Int'l, Inc., USA).
Obrazovou analýzou byly hodnoceny 4 odrůdy sladovnického ječmene ze sklizně 2001, získané z VÚPS Brno: Akcent, Jersey, Scarlett, Tolar. U cca 4000 zrn každé odrůdy (20 snímků po cca 200 zrnech) byly hodnoceny morfologické parametry: plocha, délka, šířka, obvod, střední tětiva, cirkularita, ekvivalentní průměr, elongace. Barevnými parametry byly barevnost v RGB systému, odstín, sytost a jas. Další hodnocení bylo realizováno z makrofotografií zrn (50 makrofotografií zrn 2,5:1, 1 zrno na snímek) a bylo zaměřeno na porovnávání povrchové struktury pluchy zrn.
Po výpočtech uvedených parametrů obrazovým analyzátorem byla zjišťována možnost rozlišení jednotlivých odrůd statistickými testy vybraných barevných a morfologických parametrů. Pro hodnocení byl použit F-test, T-test a test dle Kolmogorova-Smirnova. Těmito párovými testy, zahrnujícími vzájemné porovnání všech odrůd na základě jednoho morfologického parametru se nepodařilo spolehlivě jednotlivé odrůdy rozlišit.
Měření barevnosti (RGB barevné kanály) bylo provedeno v programu LUCIA 3.52a. za daných experimentálních podmínek se podařilo distribuce RGB pro jednotlivé odrůdy vzájemně odlišit testem dle Kolmogorova-Smirnova s chybou 0,1%. Výsledky měření barvy budou dále ověřeny další nezávislou metodou.
Shluková analýza byla provedena pro všechny odrůdy (17046 zrn) ječmenů na základě morfologických a barevných parametrů (Graf I.). Největší podobnost byla nalezena pro odrůdy Akcent a Jersey, odrůda Scarlett se od ostatních odlišovala nejvíce (Graf II.).
Odrůdově charakteristickým znakem je struktura nervů cévních svazků pluch zrn, což se projeví v povrchové struktuře pluchy zrna. V binárních obrazech struktur byla počítána fraktální dimenze metodou "box counting" pomocí programu Bendit 1.1. Za daných experimentálních podmínek byla pozorována vyšší fraktální dimenze u odrůdy Tolar oproti ostatním odrůdám. Hodnoty fraktální dimenze pluch zrn nebo jiné vhodné strukturní charakteristiky budou dále studovány jako možné parametry pro rozlišení odrůd sladovnických ječmenů obrazovou analýzou.

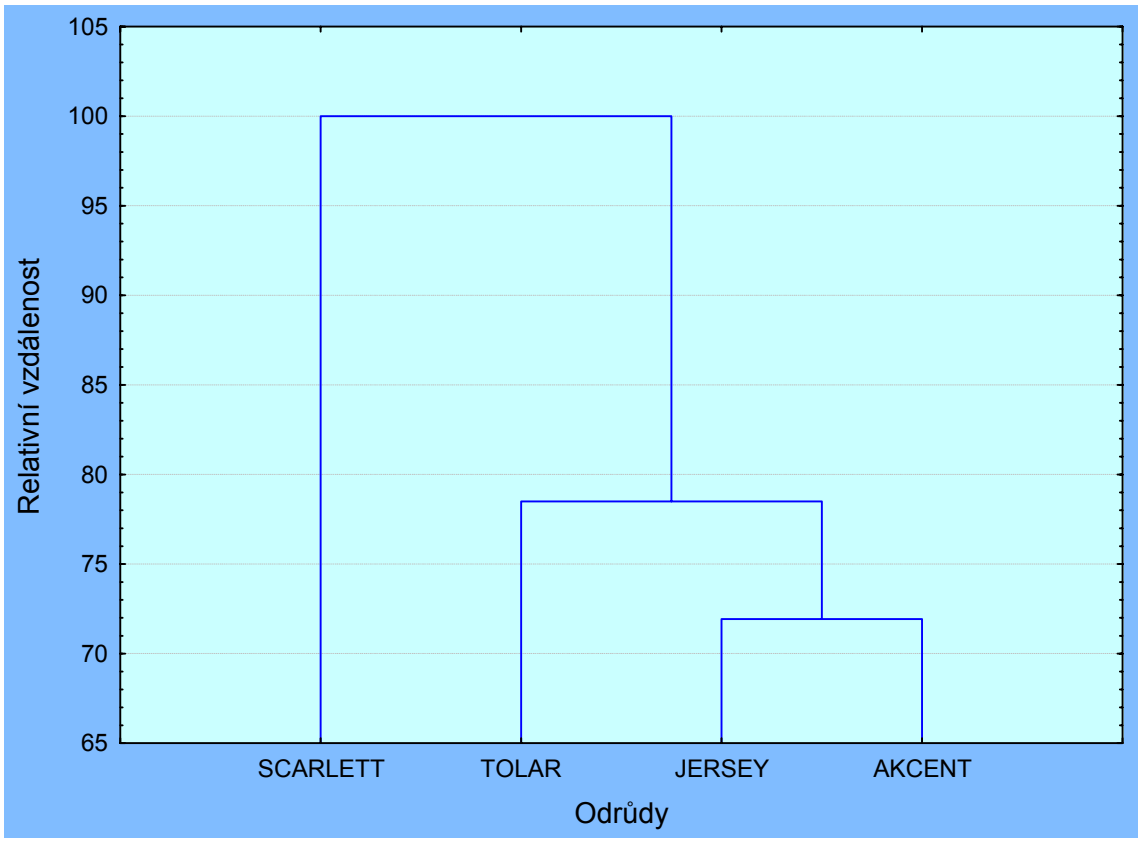
Tab I.: Průměrné hodnoty morfologických a barevných parametrů zrn jednotlivých odrůd sladovnických ječmenů

ODRŮDA	AKCENT	JERSEY	SCARLETT	TOLAR
Plocha (mm^2)	22,902	22,669	20,613	22,683
Ekvivalentní průměr (mm)	5,391	5,363	5,113	5,365
Obvod (mm)	18,959	18,855	18,233	18,879
Střední tětiva (mm)	3,784	3,766	3,541	3,764
Délka (mm)	8,147	8,079	7,889	8,106
Šířka (mm)	4,060	4,072	3,693	3,947
Cirkularita	0,800	0,801	0,778	0,799
Elongace	2,010	1,987	2,148	2,059
Střední šedá	103,884	104,063	113,847	107,681
Střední červená	139,803	140,323	148,007	145,179
Střední zelená	116,326	117,122	126,177	121,177
Střední modrá	56,533	55,745	68,353	57,696
Odstín	137,543	137,076	137,104	137,170
Střední sytost	118,355	120,348	105,254	120,937
Střední jas	0,458	0,461	0,497	0,477

Graf I.: Výsledky shlukové analýzy morfologických a barevných parametrů zrn jednotlivých odrůd sladovnických ječmenů

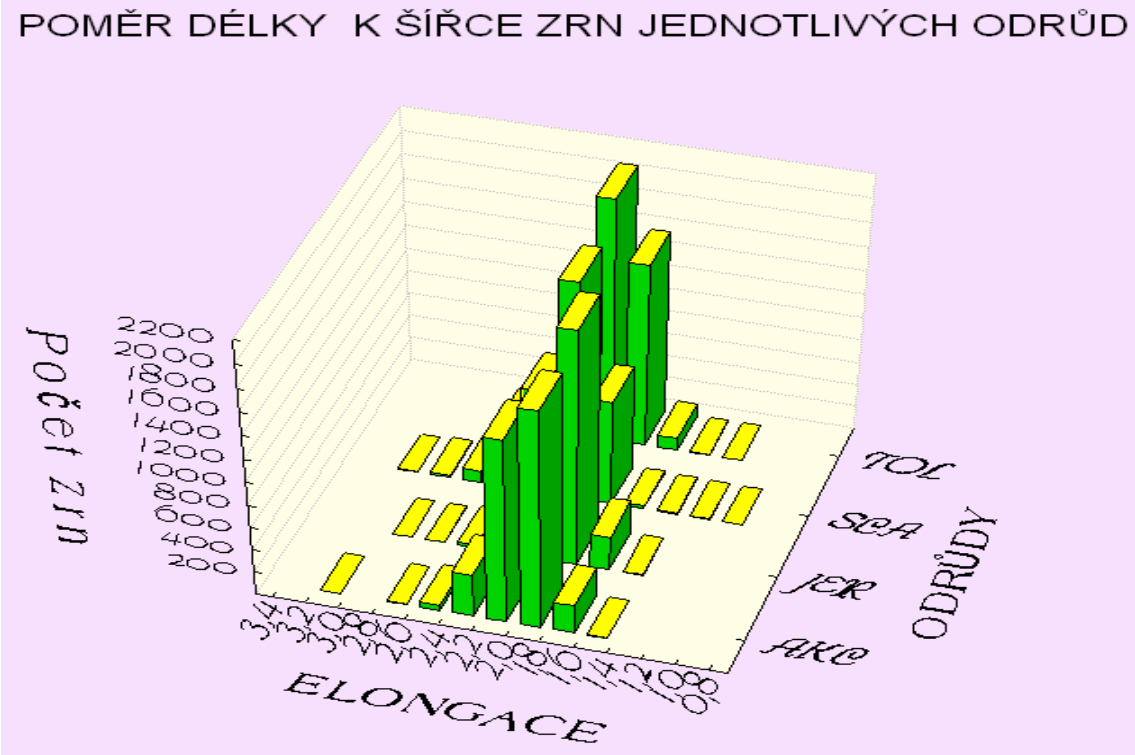


Graf II.: Výsledky shlukové analýzy jednotlivých odrůd sladovnických ječmenů na základě

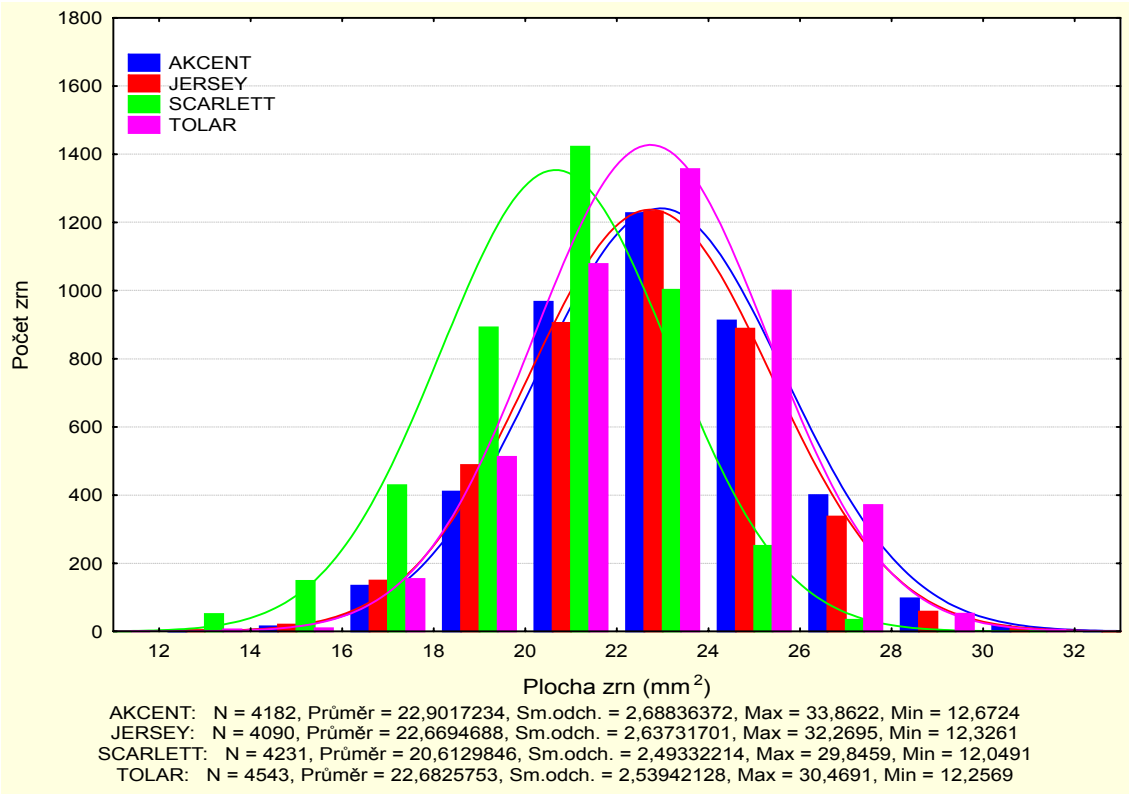


morfologických a barevných parametrů

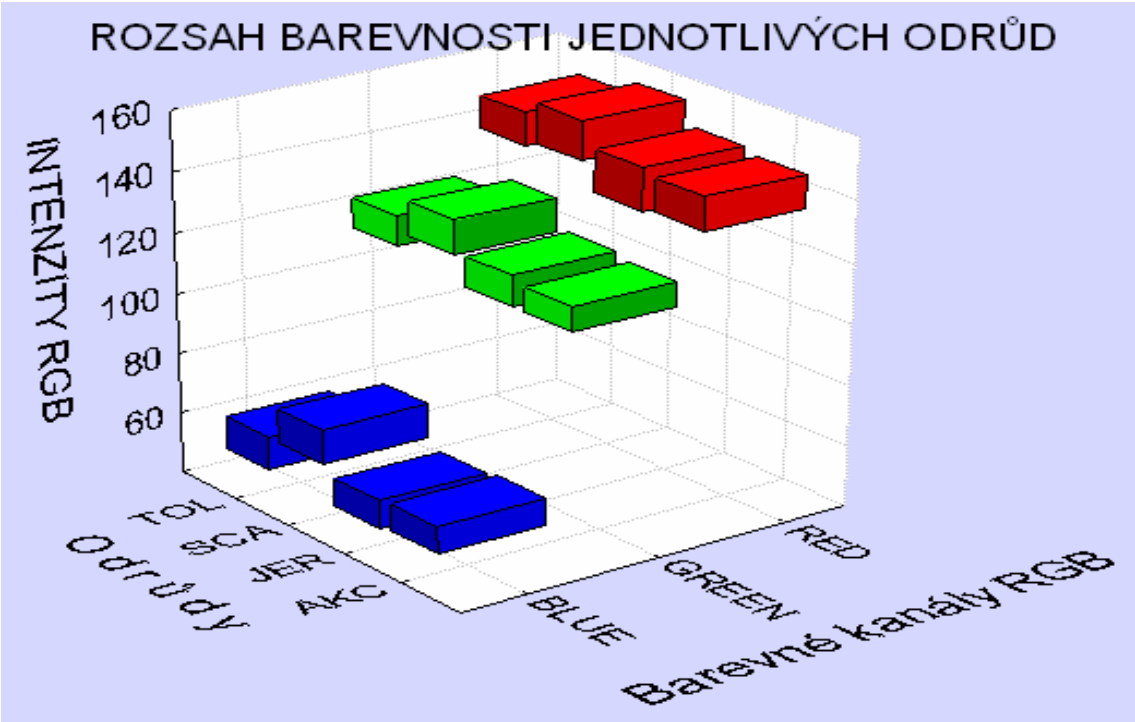
Graf III.:



Graf IV.: Distribuce ploch zrn jednotlivých odrůd sladovnických ječmenů



Graf V.:



VARIABILITA OBSAHU PENTOZANŮ A β-GLUKANŮ V OBILKÁCH ODLIŠNÝCH GENOTYPŮ JARNÍHO JEČMENE

Ehrenbergerová J.[1], Havlová P.[2], Šerhantová V.[1]
1- Ústav pěstování a šlechtění rostlin Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno
2-Výzkumný ústav pivovarský a sladařský s.r.o., Sladařský ústav Brno, Mostecká 7, 614 00 Brno

Význam arabinoxylanů (pentozanů) ječmene v průmyslových procesech je velmi podhodnocený. Pentozany jsou v poslední době diskutovány v souvislosti s působením β - glukanů a s problémy, které tyto polysacharidy způsobují při výrobě piva (tj. zvýšení viskozity sladiny a piva, snížení varního výtěžku, špatná filtrovatelnost piva a prodloužená doba scezování).
Arabinoxylany ječmene patří mezi necelulózované polysacharidy. Vyskytují se především v buněčných stěnách aleuronových buněk a ve škrobovém endospermu. V menší míře se nacházejí také ve slupce a pravděpodobně i ve zbytcích buněčných stěn, které vytvářejí další mateřská pletiva obklopující zrno.
Arabinoxylany mohou tvořit asi jen 1,5 % hmotnosti ječného endospermu, ale schopnost tvořit vysoce viskózní roztoky může značně ovlivnit technologické využití ječmene. Většina vznikajících potížích při extrakci, filtraci a stabilitě produktu, které běžně doprovázejí sladařství a pivovarnictví, jsou obvykle přisuzovány (1→3) (1→4)-β-glukanu, ale nerozložené arabinoxylany extrahované ze sladu mohou také ovlivnit viskozitu extraktu, filtraci a možná i tvorbu jistých typů zákalů piva.

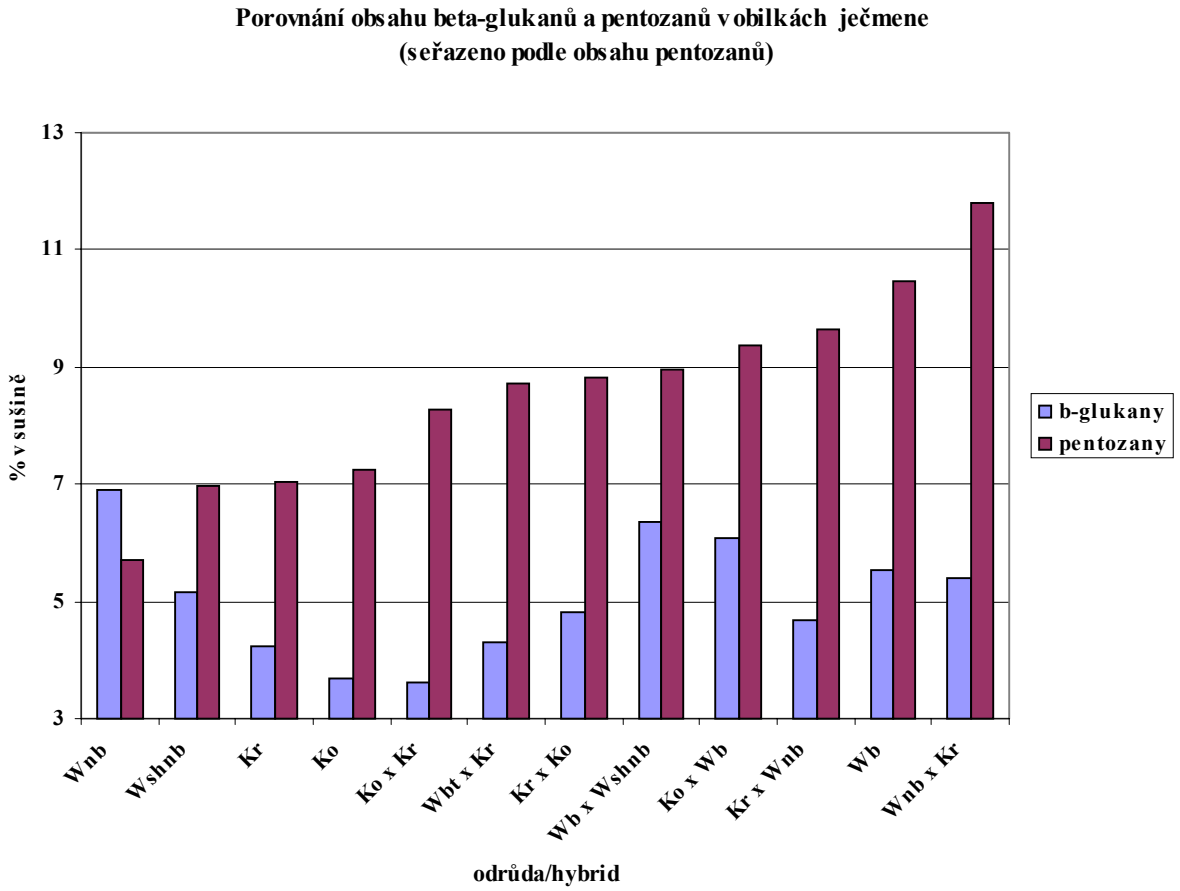
METODIKA PRÁCE

Hybridizací pluchatých sladovnických odrůd jarního ječmene a bezpluchých donorů (waxy typu) zvýšeného obsahu nutričně cenných látek, jsme vytvořili hybridy, které byly v letech 1998-2001 v generacích F2 – F5 pěstovány na ŠP MZLU v Žabčicích, včetně rodičovských forem (viz následující tabulka). Vzorky zrna F5 generace byly analyzovány ve VÚPS v Brně na obsah β-glukanů a pentozanů. Dále byl studován soubor sladovnických odrůd (SOP, Věrovany, sklizeň 2000), u nichž kromě obsahu β-glukanů a pentozanů bylo sledováno odbourávání těchto látek ve sladu a sladině.

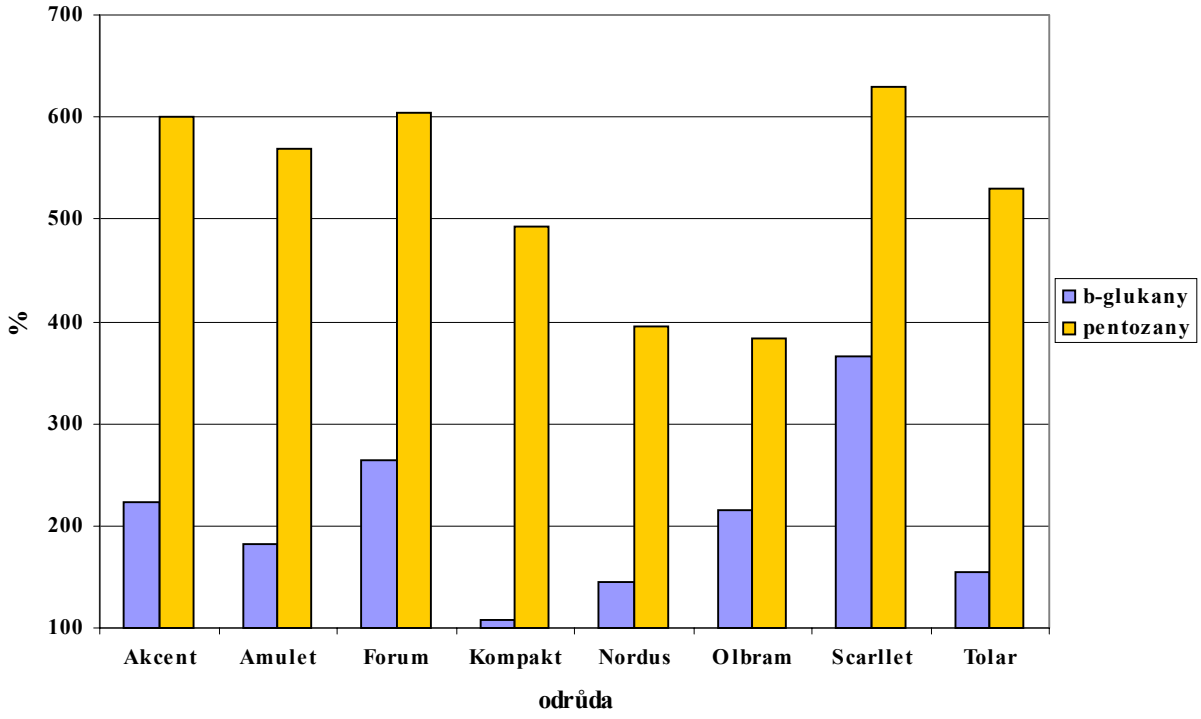
Odrůdy	Zkratka	Hybridy (linie)	Zkratka
Kompakt	Ko	Kompakt x Krona	Ko x Kr
Krona	Kr	Krona x Kompakt	Kr x Ko
Wabet	Wb	Kompakt x Wabet	Ko x Wb
Wanubet	Wnb	Krona x Wanubet	Kr x Wnb
Washonubet	Wsnb	Wabet x Krona	Wb x Kr
		Wanubet x Krona	Wnb x Kr
		Wabet x Washonubet	Wb x Wsnb

Metody stanovení obsahu pentozanů a β-glukanů

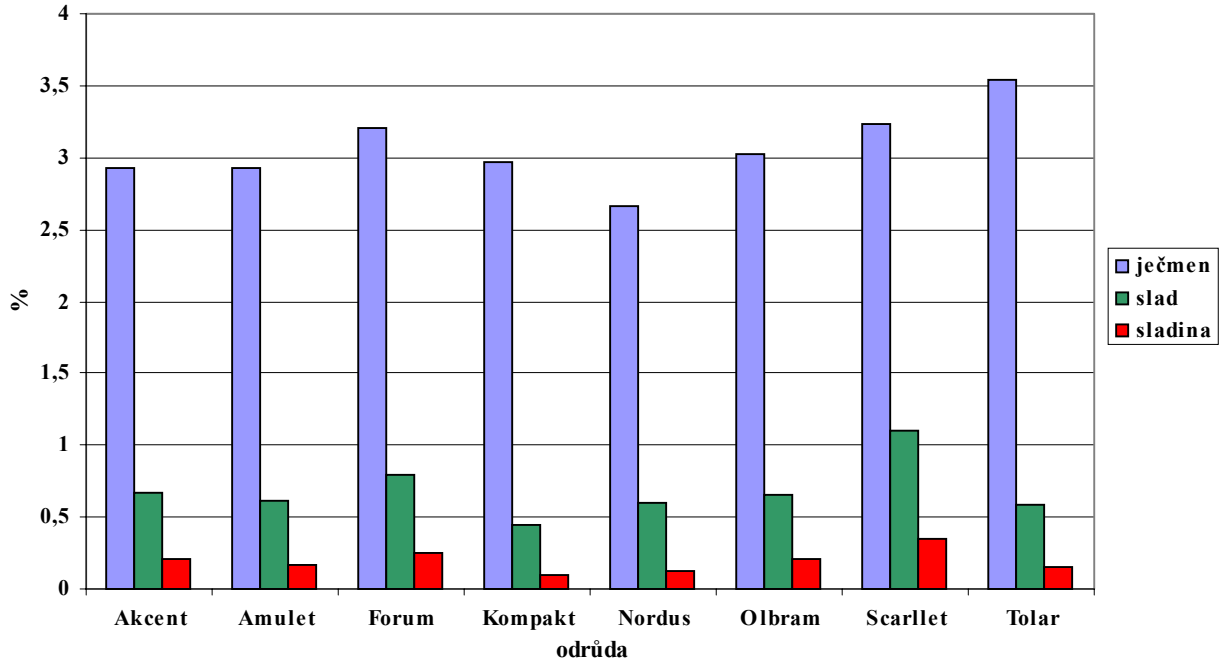
Na stanovení pentozanů lze použít vážkové a kolorimetrické metody a kapalino-plynovou chromatografii.
Vážková metoda podle Jägera (1), uváděná v potravinářských analytikách, je velmi zdlouhavá a značně nereprodukovatelná. Je založena na destilaci 2-furaldehydu, vznikajícího z pentozanů v kyselém prostředí a vážkového stanovení po vysrážení kyselinou thiobarbiturovou.
Pro sledování obsahu pentozanů v ječmeni, sladu a sladině byla zvolena spektrofotometrická metoda podle Douglase (2), která využívá jako barevného činidla phloroglucinolu. Autor modifikoval metodu Cracknella et al. (3). Při stanovení se smíchá asi 5 mg mouky (ječmene, sladu) s extrakčním roztokem. Dochází k oranžovo-červenému zabarvení, jehož intenzita se změří při A510 a A552. Výhodou metody je relativní nenáročnost na instrumentaci, jednoduchost a dobra reprodukovatelnost (4).
Pro stanovení obsahu β-glukanů v ječmeni se používá metoda FIA (Flow Injection Analysis). Princip FIA metody spočívá ve vstřikování vzorku do tekoucího nosného proudu pufru a činidla. Jako činidlo bylo použito barvivo Calcofluor White, který je specifický pro β-glykosidickou vazbu. Podstatou této metody je vytvoření komplexu uvedeného barviva s β-glukany. Reakční produkt je kvantitativně měřen v průtokovém detektoru.

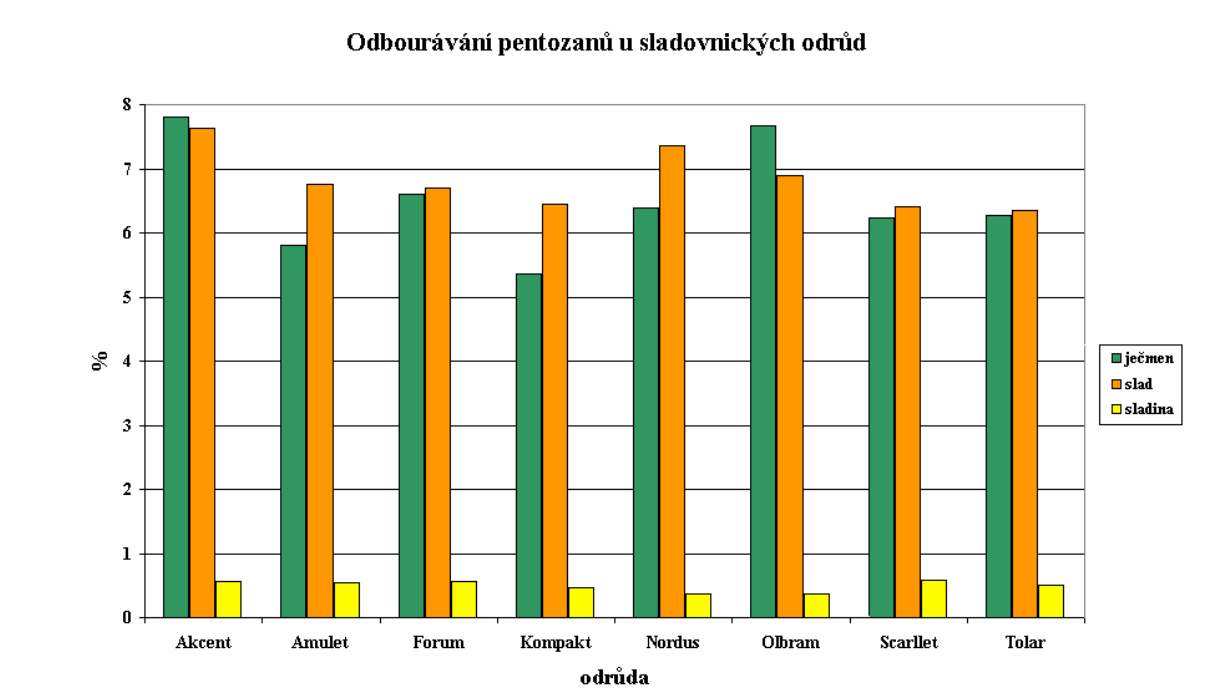


Porovnání obsahu beta-glukanů a pentozanů sladovnických odrůd ve sladině



Odbourávání beta-glukanů u sladovnických odrůd





Souhrn

Cílem práce bylo nejen stanovení koncentrace uvedených látek ve vyjmenovaných biologických materiálech, ale také porovnání jejich množství v průběhu technologie výroby piva. V případě pentozanů se jedná pouze o jednoleté výsledky (sklizeň 2000) a pro zobjektivnění zde uvedených výslledků je nutné v práci pokračovat v dalších letech. Obsah beta glukanů je sledován u waxy materiálů (pluchatých i bezpluchých odrůd) čtyři roky. Výsledky svědčí nejen o velké variabilitě obsahu beta-glukanů (3- 7 %) a pentozanů (5- 12 %) v obilkách pluchatých a bezpluchých waxy typů, menší variabilitě pak u sladovnických odrůd. V technologickém procesu výroby sladu a sladiny z obilek sladovnických odrůd dochází ke snižování původní hladiny beta-glukanů (2,5 – 3,6 %) a pentozanů (5-8 %) tak, že ve sladině bylo obou látek nejnižší množství (v průměru 0,5 %). Přitom nejsilnělší tendence k odbourávání beta-glukanů byla patrná při sladování, zatímco u pentozanů až při výrobě sladiny.

Literatura:

1. BASAŘOVÁ a kol.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha, 1993, s.591
2. VACULOVÁ at al.: The variability and correlations between the content of vitamin E and its isomers in hybrids of the F_2 generation of spring barley. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun. (Brno), 2001, XLIX, No. 1, pp.: 59-67.
3. DOUGLAS, S.: Food Chemistry, 7, 1981, s.139-145
4. CRACKNELL, R., L., MOYE, C., J.: Proc. 20th Ann. Conf. R.A.C.I. Canberra, 17-20 August, 1970, s.67-77
5. MIKYŠKA a kol.: Výzkum vlivu pentozanů a β-glukanů na filtrovatelnost piva. Výzkumná zpráva VÚPS, Praha, 2000

VLIV VYBRANÝCH EKOLOGICKÝCH FAKTORŮ NA KVALITU POHANKY

Hradecká D.[1], Staszková L.[2],
1-Katedra rostlinné výroby AF ČZU Kamýcká 957, 165 21 Praha 6 - Suchdol
2- Katedra chemie AF ČZU Kamýcká 957, 165 21 Praha 6 – Suchdol

Při zpracování osevních sledů je vhodné řadit meziplodiny, např. pohanku, která šetří stanoviště. U nás dosáhlo její pěstování maxima v r. 1920, kdy osevní plocha činila 2911ha. V roce 1950 poklesla na 954ha. Koncem století dochází k renesanci pěstování pohanky. Proto jsme si vytkly jako cíl posouzení výnosu a jakosti u sortimentu odrůd dostupných v současné době ČR. U pohanky ceníme nektarodárnost, nenáročnost, rekultivační hodnotu, zdravotní stav, tolerantnost k předplodinám, využitelnost na zelené hnojení i ke krmení. Pohanka má rozmanité uplatnění např. při výrobě dietních potravin. Hodnotí se obsah bílkovin, esenciálních aminokyselin, vitaminů, popelovin. Ve farmaceu- tickém průmyslu je zdrojem rutinu pro Ascorutin a další léčiva, v kosmetickém průmyslu se preferuje kvalita škrobu. Agronomům působí někdy potíž technologická zralost, protože porosty se sklízejí postupně zrající. Z toho plynou možné sklizňové ztráty, které je povoleno omezit až o 18% desikací Reglonem (dávka 2-3 l/ha). Výnosová struktura je tvořenaí počtem rostlin, větví, květenství a květů. Výnos stimulují rostlinné extrakty (kopřivy, špenát, řasy, cibule).

MATERIÁL A METODY

V r. 1989-1994 byla na ČZU pěstována pohanka (120 rostlin/m^2 , parcely 20 m^2 ,4 opak.) v pěti postupných výsevech od dubna do června v řádcích 15 a 30cm (odrůdy diploidní 2n i tetraploidní 4n a rutinová *Tatarka*). Po 14 dnech byl měřen délkový růst, distribuce sušiny, asimilační plocha, počet listů, větví, květů, květenství/rostl. a podíl dlouhočnělečných květů ve vztahu ke kvalitě a výnosu nažek, a hmotnost 1000 semen (HTS). Byl stanoven i rutin v nažkách v servisní laboratoři katedry chemie ČZU Praha.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou presentovány v tabulkách a grafech.Tabulky, charakterizující ročník a agrotechniku shrnují průměry odrůd, tabulky, týkající se odrůd jsou sestaveny z průměrů ročníků. Výnosová struktura pohanky se lišila dle charakteru ročníku, jak je zřejmé z tab.č.1

Tab.1

Ročník	Počet větví	Počet hroznů	Počet nažek/hroz	Počet nažek/rostl	Hmotnost nažek/rost	HTS (g)	Výnos t/ha	Redukce nažek %
1989	2,9	19,2	14,9	290,6	7,6	25,8	1,6	69,7
1990	2,8	15,1	15,5	237,0	5,8	25,4	1,4	49,0
1992	3,3	11,6	16,2	185,4	5,8	27,3	1,8	57,8
1993	3,9	11,7	16,1	190,2	5,1	26,6	2,0	54,5
1994	4,2	14,1	14	197,4	5,7	28,3	1,8	62,3
Průměr	3,2	14,3	15,3	202,3	6,0	26,7	1,7	58,7

Rok	Pokryv. listoví m^2/m^2	Sušina stonky	Sušina listy	Sušina květenství	Podíl dl.čněl. květů %	Výn. ztráty kg/ha	Srážky mm	Úhrn teplot
1989	2,5	463,0	248,0	198,5	-	-	197	1869
1990	3,1	264,5	147,6	105,5	40,7	77,3	188	1426
1992	2,4	285,5	202,5	143,5	47,9	70,7	231	1892
1993	2,8	320,0	240,0	170,0	47,8	56,3	304	1925
1994	2,9	330,0	305,0	147,0	42,5	90,2	243	1596
Průměr	2,8	337,4	232,9	158,9	47,2	74,2	233	1742

Výnos odrůd se pohyboval v rozmezí 1,3 do 2,6 t/ha (tab.č.2)

Tab.2

Varianta:	Výnos t/ha	Varianta:	Výnos t/ha	Varianta:	Výnos t/ha	Varianta:	Výnos t/ha
Astra	1,6	**Balada**	*2,5*	Bolševik	*2,3*	Emka	*2,6*
Hrušowska	*2,5*	Jana	*1,8*	Kora	2,1	Krupinka	*2,5*
Lilejla	*2,6*	Lubawa	*2,5*	Prego	*2,6*	Skorospelaja	*2,4*
Sunčanka	2,1	Tardo	1,3	Pyra	*1,4*	Tatarka	*1,6*

Meziřádková vzdálenost 30cm je vhodnější pro farmaceutický směr pěstování. Skýtá víc drogy, protože rostliny mají větší pokryvnost listoví (LAI) i biologický výnos, jak vyplývá z ukazatelů tab.č.3.

Tab.3

	řádky 15 cm	řádky 30 cm
Hmotnost nažek/rostl(g)	6,0	7,5
HTS(g)	25,6	26,7
Počet nažek /rostl	135,0	269,0
Počet hroznů počet větví	2,8	3,6
Délka větví(cm)/maximum/	35,8	53,7
Výška rostlin(cm)	89,4	79,6
Pokryv. listoví m^2/m^2 (maximum)	2,5	3,14
Sušina /rostl.(g)	30,1	37,4
Sušina nažek(g)	13,9	17,9
Sklizňové ztráty kg/ha	74,5	75,2

V praxi je tato vzdálenost řádků vhodná také při zakládání porostů semenářských. Je li třeba, lze do- poručit chemické ošetření, např. RACER, FASNET, BETANAL, SYNBETAN a FUSILADE. Na krátkém dni stoupl podíl dlouhočnělečných květů, s hmotnějšími nažkami. Proto je vhodné zakládat semenářské porosty časně zjara. Zrno pozdních výsevů mělo nízkou HTS,pocházelo převážně z krát- kočnělečných květů, špatně opylených, s pomalým vývojem.

Při pěstování pohanky pro potravinářské účely nestojíme o chemické vstupy vzhledem k dietetickému využití ve výživě lidí a k stimulaci tvorby výnosu a jeho kvality lze použít pouze přírodních výluhů z rostlin. Na ČZU byly porovnány i habituální zvláštnosti vybraných odrůd. Jsou zachyceny v tab č.4.

Tab.4

	Pyra	Emka (4n)	*Tatarka (rutinová)*	Siva	Hrusow-ska	Kijev-ská	Hashi-hami	Reser-voire
Výnos t/ha	1,3	1,3	1,58	1,6	1,8	1,9	1,7	1,8
Sklizňové ztráty kg/ha	53,4	58,1	35,8	89,7	69,1	77,9	49,9	60,1
HTS(g)	27,7	37,2	27,6	24,5	29,3	29,7	34,2	25,3
Počet hroznů počet větví	13,3	11,2	12,5	14,9	16,9	17,2	12,5	10,3
Výška rostlin(cm)	78	92	78	103	92	89	124	74
Pokryvnost listoví m^2/m^2 LAI	4,2	5,2	4,3	3,6	2,9	5,4	4,2	4,9
Sušina stonků%.	65,0	35,5	65,0	53,8	38,9	46,1	44,2	48,0
Sušina listů %	18,8	28,2	15,8	22,0	34,4	28,5	28,7	25,8
Sušina nažek%	16,2	36,3	19,2	24,2	26,7	25,4	27,1	26,2
Čistý výkon.asimilace -NAR	5,2	2,2	0,9	1,4	2,7	1,4	1,3	1,2
Relativní.rychlost růstu-RGR	130,7	148,9	105,6	140,8	135,6	148,8	109,2	192,6

Farmaceutická pohanka (odrůda *Tatarka*) se sklízela v porostu do 20cm výšky. Droga se sušila na vzduchu, nebo náhřevem do 60°C. Rostliny lze nechat obrůstat a sklízet další.seče. Výnos drogové sušiny se snižoval s postupným stárnutím porostů až na 15 g/m^2 (tab.č.5)

Tab.5

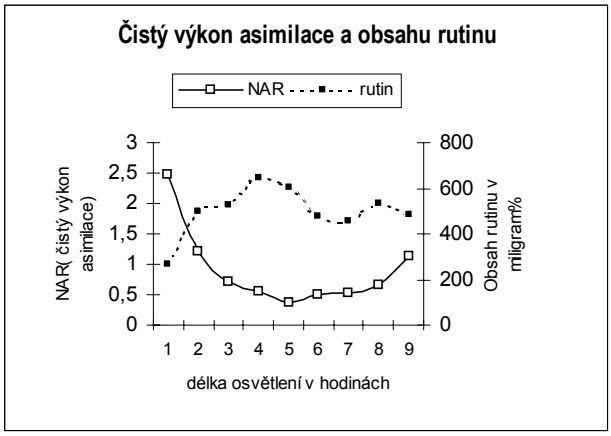
Výsev	Droga získaná sečením porostu					Celkem v sezoně (g/m^2)	Droga získaná ručním sběrem				Celkem v sezoně (g/m^2)
	řádky	1.sklizeň	2.sklizeň	3.sklizeň	4.sklizeň		1.sklizeň	2.sklizeň	3.sklizeň	4.sklizeň	
I.	15cm	304,3	145,6	55,8	neobrostl	505,7	122,7	64,5	15,8	V té době již rostliny neobrostly	203,0
22.4.	30cm	411,4	158,6	69,4	15,2	654,6	156,5	89,5	18,7		264,0
II.	15cm	627,1	189,7	84,7	15,4	916,9	227,1	202,1	66,2		495,0
5.5..	30cm	695,8	243,6	123,2	56,4	1119,0	245,3	147,3	105,7		498,3
III.	15cm	271,2	226,4	102,0	51,7	651,7	317,8	187,8	151,4		657,0
26.5.	30cm	326,5	302,3	175,8	98,2	632,8	309,2	206,9	183,3		699,4

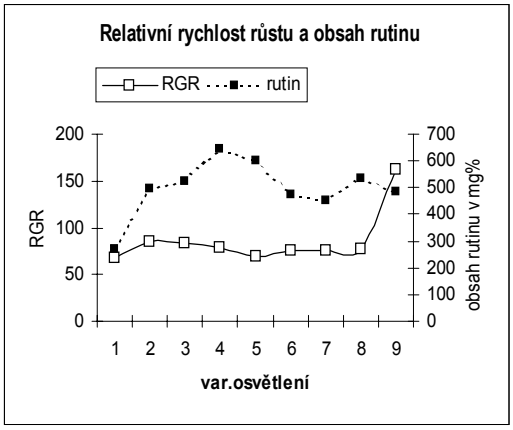
Se změnou délky dne se měnil i obsah rutinu. Nejvyšší obsah rutinu byl zjištěn u časných letních výsevů (délka dne 12 hodin), viz obr. 1, a 2, a tab. č.6, kde byly rostliny po 8 hod. osvětlení v poli zakryty, zatímco delšího dne bylo dosaženo umělým přisvětlením v délce 1,2,...až 9 hodin.

Tab.6

Úhrn hod. osvětlení	**768**	**816**	**864**	**912**	**960**	**1008**	**1056**	**1104**	**1152**
délka rostliny cm	46,6	55,4	59,5	63,6	74,1	74,0	66,2	59,1	54,3
Počet listů	6,5	9,40	10,7	12,8	12,3	11,4	10,4	9,4	7,3
LAI	0,9	1,8	3,0	4,0	4,6	3,5	2,60	1,8	1,4
Podíl sušiny stonků%	67,6	63,9	66,2	65,2	60,9	55,1	53,2	53,1	53,1
Podíl sušiny listů %	24,4	26,2	22,5	22,0	25,6	20,1	19,0	28,7	28,3
Podíl sušiny květů%	8,0	9,9	11,3	12,8	13,5	24,8	27,8	18,2	18,6
Sušina 10 rostl (g)	76,5	84,9	97,2	105,8	103,5	98,2	74,9	76,9	74,5
Počet hroznů/ rostl	8,1	8,7	9,4	9,7	10,5	11,2	10,8	12,9	15,1
Počet květů/ hrozen	11,9	11,8	13,0	13,2	14,6	10,6	10,5	9,8	9,5
Podíl dlouhočněl. květů	62,9	64,1	67,5	62,3	56,2	38,1	36,1	34,2	23,2
Obsah rutinu mg%	0,38	0,44	0,62	0,68	0,57	0,54	0,53	0,50	0,33
Barva stonků	zelená	zelená	zelená	zelená	zelená	rudá	rudá	rudá	rudá

Zelená barva žilnatiny ukazuje na převahu metabolismu rutinu, vitexinu a dalších.





Obr.1 Obr. 2

DOPORUČENÍ PRO PRAXI

Praxi lze doporučit jako optimální setí konec dubna, nejdéle začátek května,výsevek nižší (100-150 zrn/m^2), hloubka 2-3 cm, v případě nebezpečí poškození holuby v příměstské oblasti hlouběji, šířka řádků setí 25-30 cm. Při nadměrném zaplevelení aplikovat herbicid. Je vhodné věnovat pozornost odrůdě při výběru osiva. Tetraploidní odrůdy mohou být výnosnější, ale jsou citlivější k době setí. U nepotravinářských směrů pěstování lze aplikovat ochranu i případnou foliární výživu, u pohanky pro dietní a zdravou výživu lze porosty ošetřit výhradně ekologickými preparáty, na bázi výluhů rostlin.

Práce byla podpořena záměrem MSM 412100002 AF - ČZU

ŠTÚDIUM KONCENTRÁCIE AMINOKYSELÍN V BIELOM A ČIERNOM KORENÍ

Buchtová V., Staruch L., Dodok L., Chomová Ľ.
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

Koreniny sú produkty, zväčša rastlinného pôvodu, ktoré používame na ochutenie, aromatizovanie, prípadne konzervovanie našich potravín a výrobkov potravinárskeho priemyslu. Koreniny sú veľmi potrebné v našej výžive, lebo svojou chuťou, vôňou a farbou robia základné živiny chutnými a pomáhajú, aby organizmus vhodne zužitkoval živiny skonzumovaného jedla. Najnovšie výskumy potvrdzujú, že aromatické a chuťové látky sú mimoriadne dôležité pre ľudský organizmus, lebo pomáhajú vylučovať žalúdočné šťavy a podporujú proces látkovej premeny. Okrem toho koreniny priaznivo pôsobia aj na činnosť srdca a na krvný tlak. Obsah éterických olejov korenín bráni rozvoju mikroorganizmov, ba niektoré majú aj baktericídny účinok. Tak koreniny zlepšujú údržnosť požívatín a zabraňujú rozmnoženiu škodlivých baktérií v črevách.

Materiál a metódy

V našej práci sme sa zamerali na kvalitatívne a kvantitatívne stanovenie aminokyselín vo vzorkách čierneho a bieleho korenia: biele korenie – výrobca Ducros–Food Industry Quarlier La Tapy – Mon heux Francúzsko, čierne korenie – výrobca Mäspoma s.r.o. Zvolen.

Na stanovenie aminokyselín sme hydrolyzovali 0,5 g vzorky s 30 ml c (HCl) = 6 $mol^{-1}dm^{-3}$ pri teplote 110 ^{o}C po dobu 24 h. Hydrolyzáty sme odparili a zriedili s 10 % roztokom kyseliny octovej [1]. Koncentráciu aminokyselín sme stanovili na automatickom analyzátore aminokyselín AAA T 339 Mikrotechna Praha, upravenom metódou Spackmana, Moora a Steina [2].

Výsledky a diskusia

V tabuľke 1 uvádzame koncentrácie jednotlivých aminokyselín, sumu esenciálnych a ostatných aminokyselín v g/100 g vzorky a matematicko-štatistické vyhodnotenie použitej metódy. Ako vidno z tabuľky, suma esenciálnych aminokyselín vo vzorke „Biele korenie“ bola 3,89 g/100 g vzorky, suma ostatných aminokyselín bola 7,52 g/100 g vzorky. Z esenciálnych aminokyselín najviac zastúpené boli leucín 1,41 g/100 g vzorky a fenylalanín 0,77 g/100 g vzorky, najmenej zastúpený bol metionín 0,12 g/100 g vzorky. Z ostatných aminokyselín najviac zastúpené boli kyselina glutámová 1,87 g/100 g vzorky a kyselina asparágová 1,33 g/100 g vzorky a najmenej zastúpený bol histidín 0,26 g/100 g vzorky.

Vo vzorke „Čierne korenie“ bola suma esenciálnych aminokyselín 2,94 g/100 g vzorky, suma ostatných aminokyselín bola 5,79 g/100 g vzorky. Z esenciálnych aminokyselín najviac zastúpený bol leucín 0,97 g/100 g vzorky a fenylalanín 0,50 g/100 g vzorky a najmenej bol zastúpený metionín 0,06 g/100 g vzorky. Z ostatných aminokyselín najviac zastúpené boli kyselina glutámová 1,58 g/100 g vzorky a kyselina asparágová 1,26 g/100 g vzorky a najmenej zastúpený bol histidín 0,21 g/100 g vzorky.

Zo získaných výsledkov vyplýva, že v čiernom korení je zastúpenie aminokyselín nižšie ako v bielom korení.

Prínosom našej práce je rozšírenie poznatkov v oblasti aminokyselinového zloženia korenín, nakoľko v dostupných literárnych prameňoch sme sa s riešením tejto problematiky nestretli.

Spracované výsledky sme matematicko-štatisticky vyhodnotili týmito parametrami [3]:

1. aritmetický priemer $\bar{x}$
2. smerodajná odchýlka S_R
3. relatívna smerodajná odchýlka S_r (%)

Literatúra

1. PRÍBELA, A.: Analýza potravín, 2. vydanie, Bratislava STU, 1991, 394 s.
2. MIKROTECHNA: Automatický analyzátor aminokyselín AAA T 339, l. vydanie, Praha, 1983, 43 s.
3. ECKSCHLAGER, S.N., HORSÁK, J., KODEJŠ, Z.: Vyhodnocovanie analytických výsledkov a metód, SNTL, Praha 1980, 224 s.

Tabuľka 1 AMINOKYSELINOVÉ ZLOŽENIE KORENÍN v g/100 g vzorky (n=3)

Aminokyselina	Biele korenie			Čierne korenie		
	$\bar{x}$	S_R	S_r (%)	$\bar{x}$	S_R	S_r (%)
Leucín	1,41	0,01	0,71	0,97	0,01	1,03
Izoleucín	0,42	0,01	2,38	0,36	0,01	2,78
Lyzín	0,19	0,01	5,26	0,24	0,01	4,17
Valín	0,57	0,01	1,75	0,48	0,02	4,17
Fenylalanín	0,77	0,03	3,90	0,50	0,01	2,00
Treonín	0,40	0,02	5,00	0,33	0,00	0,00
Metionín	0,12	0,01	8,33	0,06	0,00	0,00
SEAK	**3,89**	**0,08**	**2,06**	**2,94**	**0,04**	**1,36**
Tyrozín	0,53	0,01	1,89	0,22	0,01	4,55
Histidín	0,26	0,01	3,85	0,21	0,01	4,76
Arginín	0,28	0,02	7,14	0,27	0,01	3,70
Serín	0,61	0,02	3,28	0,52	0,01	1,92
Prolín	1,30	0,02	1,54	0,63	0,01	1,59
Glycín	0,44	0,01	2,27	0,50	0,01	2,00
Alanín	0,91	0,03	3,30	0,61	0,01	1,64
Kys. asparágová	1,33	0,03	2,26	1,26	0,02	1,59
Kys. glutámová	1,87	0,03	1,60	1,58	0,01	0,63
SOAK	**7,52**	**0,10**	**1,33**	**5,79**	**0,03**	**0,52**

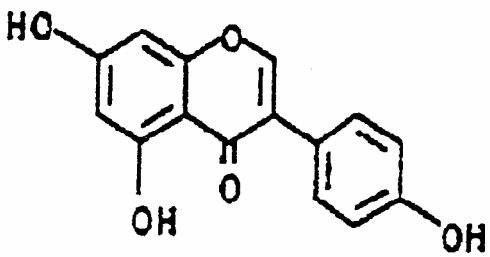
SEAK – suma esenciálnych aminokyselín
SOAK – suma ostatných aminokyselín

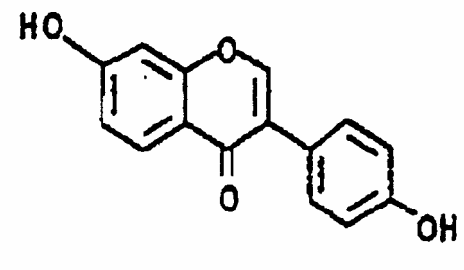
STANOVENÍ SOJOVÝCH PROTEINŮ V POTRAVINÁCH METODOU CZE

Zemanová J., Vespalcová M., Vránová D.
Ústav potravinářské chemie a biotechnologie, Fakulta chemická VUT v Brně,
Purkyňova 118, 612 00 Brno, e-mail: zemanova@fch.vutbr.cz

Snaha o zlepšení textury, vazebných vlastností, zadržování vody a tuku i vylepšení nutričních vlastností vede k nahrazování části masného podílu ve výrobcích bílkovinami mléčnými, vaječnými a rostlinnými. V neposlední řadě však k tomuto kroku vedou i ekonomické důvody jednotlivých výrobců, kdy k masným výrobkům jsou tak přidávány různé bílkoviny jiného původu, než je dáno technologickým postupem. Proto je také nutné spotřebitele chránit před neserióznosti některých výrobců.
Vhodnými indikátory sójových proteinů přítomných v potravinách se ukázaly být aglykony genistein, daidzein a jejich odpovídající glykosidy. Tyto látky a jejich malonylové formy jsou odpovědné za adstringentní chuť sojových potravin.

Sojové isoflavony mohou být úspěšně separovány jak vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC), tak i kapilární zónovou elektroforézou (CZE).
Kapilární zónová elektroforéza (CZE) je účinná analytická technika, založená na elektroforetické separaci látek v tenkých kapilárách. Rychlost analýzy, vysoká citlivost a rozlišení staví tuto metodu na atraktivní pozici pro stanovení širokého spektra sloučenin, včetně látek z potravinářské oblasti.
Cílem bylo nalézt optimální podmínky pro stanovení sójových isoflavonů právě metodou kapilární zónové elektroforézy.

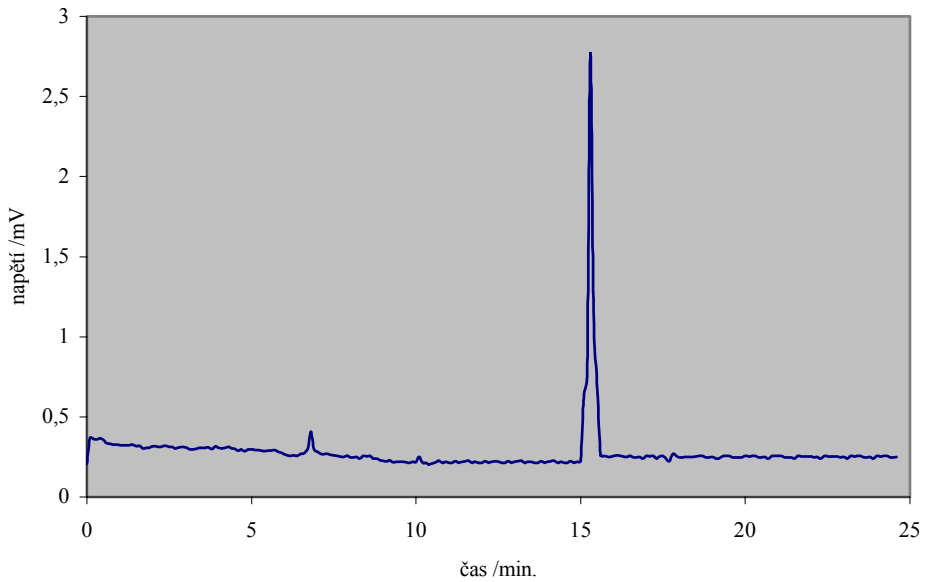




Obr.1: *Daidzein*

Obr.2: *Genistein*

K analýze byl použit přístroj PrinCE 460 s nepokrytou křemennou kapilárou o vnitřním průměru 50µm. Její celková délka byla 100cm a efektivní pak 75cm. Detekce byla prováděna prostřednictvím UV detektoru, a to při 260 nm. Jako základní elektrolyt byl připraven borátový pufr o koncentraci 0,15 – 0,5 mol/l a pH v rozmezí 8,5 – 10,5 (upraveno pomocí NaOH). Samotná analýza běžela při 25kV a teplotě 25°C. Vzorky byly dávkovány pod tlakem 50mBar po dobu 30s. Mezi jednotlivými analýzami byla kapilára promývána 3 min. 0,1mol/l NaOH a 5 min. základním elektrolytem. Po skončení analýz byla kapilára promyta 0,5mol/l NaOH, vodou a následně takto uchována (tzn. naplněna vodou).

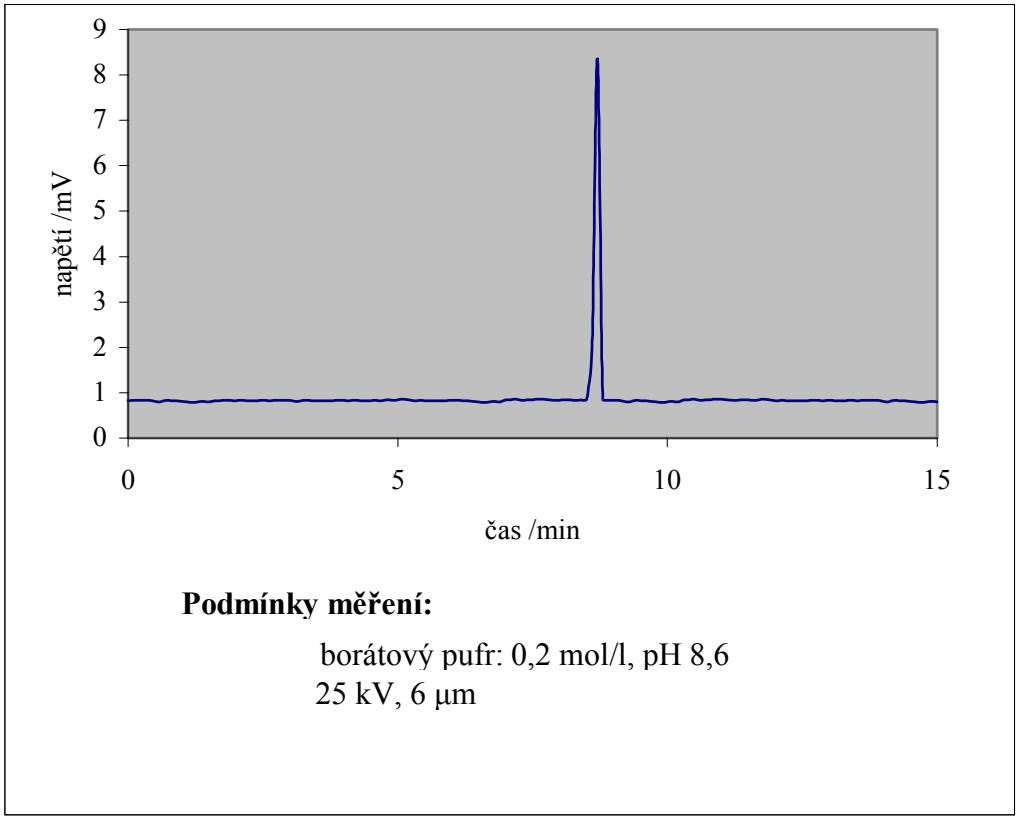


Podmínky měření:

borátový pufr: 0,15mol/l, pH 10,0

25 kV, 8 µm

Obr.3: *Elektroforegram daidzeinu*



Obr.4: *Elektroforegram genisteinu*

Flavonoidní sloučeniny jsou slabé kyseliny s konstantami pKa v rozmezí 9 – 10. Izoflavony tvoří s borátovými ionty komplexy – záporně nabité ionty. Izoflavony vykazují potom v takovémto prostředí oproti pufrům, které komplexy netvoří, vyšší hodnoty retenčních časů. Navíc se retenční časy zvyšují i s rostoucím pH základního elektrolytu. Při vyšším pH však dochází k lepšímu oddělení jednotlivých izoflavonů. Přídavek organických rozpouštědel (methanolu) způsobuje oslabení elektroosmotického toku, tím tedy i zvýšení retenčních časů analyzovaných vzorků, na kvalitu separace ale vliv nemá.

Literatura:

Mellenthin O., Galensa R.: Sojanachweis in Fleischprodukten mittels Kapillarzonen-elektrophorese und Diodenarraydetektion, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **92(6)**, 171 – 175 (1996)

Aussenac T., Lacombe S., Daydé J.: Quantification of isoflavones by capillary zone electrophoresis in soybean seeds: effects of variety and environment, American Journal of Clinical Nutrition, 68(6), 1480S – 1485S (1998)

Mellenthin O., Galensa R.: Analysis of polyphenols using capillary zone electrophoresis and HPLC: Detection of soy, lupin and pea protein in meat products, J. Agric. Food Chem., 47, 594 – 602 (1999)

McLeod G.S., Shepherd M.J.: Determination of the ionisation constants of isoflavones by capillary electrophoresis, Phytochemical Analysis, 11, 322 – 326 (2000)

UPLATNĚNÍ MATUROGRAFU PRO SLEDOVÁNÍ ZMĚN VLASTNOSTÍ PŠENIČNÉHO TĚSTA A PEČIVA VLIVEM ZLEPŠOVACÍCH PŘÍPRAVKŮ

Skvrnová J., Blažková K., Hrušková M.
Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Klasický pekařský proces, kterým se z pšeničné mouky hladké, droždí, soli, cukru, tuku a ostatních komponent vyrobí spotřebitelsky atraktivní cereální výrobek, se z fyzikálně-chemického hlediska dělí na tři hlavní technologické operace: **hnětení, fermentaci a pečení**. Změny vlastností těsta v každé této fázi výroby jsou důsledkem změn na molekulární i mikroskopické úrovni a souvisí s vlastnostmi recepturních složek těsta, podmínkami příslušné technologické operace a časem.
Pro dosažení kvalitního kynutého pekařského výrobku je rozhodující zdánlivá viskozita těsta, jeho pružnost a tažnost (1). Experimentálně bylo prokázáno, že zdánlivá viskozita těsta podmiňující vznik plynových komůrek při optimálním vývinu těsta během hnětení, je srovnatelná pro pekařsky dobré i špatné mouky Rozdíly mezi nimi jsou přičítány vztahu mezi pružností a tažností těst, ovlivněném množstvím a složením zásobních bílkovin pšeničné mouky.Tyto charakteristiky rozhodují o chování těsta při fermentačních pochodech jak ve fázi zrání a kynutí tak na počátku pečení, kde se rozhoduje o objemu a vlastnostech hotového výrobku.
Požadavky na jakost, trvanlivost a standardnost pekařských výrobků se řeší přídavkem pekařských zlepšujících přípravků. Lze je rozdělit podle aktivní složky na enzymové, oxidačně-redukční, povrchově aktivní a vazné prostředky. Komplexní přípravky obsahují několik skupin aktivních látek a podle složení mají specifické účinky na zpracovatelnost těsta, technologické časy a vlastnosti finálních výrobků.
Vlastnosti kynutého pšeničného těsta nelze uspokojivě popsat základními reologickými přístroji jako jsou farinograf, extenzograf nebo alveograf. Cereální chemici to vysvětlují tím, že tyto přístroje jsou příliš razantní a rychlé na postižení pozvolných a časově mnohem delších změn, probíhajících v kynutém těstě obsahujícím vedle pevné a tekuté i plynnou fázi. Pro hodnocení vlastností kynutého pšeničného těsta byly vyvinuty uzanční reologické přístroje (2): **rheofermentometr** a **fermentograf** (sledují zrání těsta), **maturograf** (sleduje dobu kynutí klonků těsta), **OTG přístroj** (sleduje změnu objemu těsta ve vyhřívané olejové lázni).

Cílem práce bylo sledovat pomocí maturografu změny vlastností pšeničného těsta vlivem vybraných zahraničních a tuzemských pekařských zlepšovacích přípravků na dobu dokynutí a jejich účinky na charakteristiky laboratorně vyrobeného pečiva.

MATERIÁL A METODY

Pro sledování vlivu pekařských zlepšovacích prostředků na chování pšeničné mouky hladké byly použity dva vzorky vyrobené v průmyslovém mlýně z potravinářské pšenice ze sklizně 2000, lišící se technologickou jakostí.

Byly testovány zlepšovací přípravky (koncentrace A a B),uvedené v **Tab.I**

Tab. I Hodnocené zlepšující přípravky

			Dávkování	
Označení	**Komerční název**	**Výrobce**	**A**	**B**
1	***Superzyme***	Denmark Enzyme, Dánsko	50ppm	150ppm
2	*Grindamyl PR 59*	Grindsted, Dánsko	0,05%	0,1%
3	*Mulgaprime 16*	Muhlenchemie GmbH, SRN	0,2%	0,4%
4	*Alphamalt A 7003*	Muhlenchemie GmbH, SRN	100ppm	200ppm
5	*Veron CLX*	Rohn enzyme GmbH, SRN	50ppm	150ppm
6	*Ramilex*	Kralupské mlýny a.s., ČR	0,5%	1%

Jakost pšeničných mouk

Jakost pšeničných mouk byla hodnocena:

-analytickými znaky (popel, mokrý lepek, bílkoviny, granulace, číslo poklesu, Zelenyho test podle ČSN 560512, ČSN ISO 3093 a ICC 116).

-reologickými parametry (farinograf, extenzograf, amylograf podle ČSN ISO 5530-1, ČSN ISO 5530-2 a ICC126/1)

-pokusným pečením (interní metodika VŠCHT Praha).

Příprava těsta

Standardní těsto na maturografické zkoušky a pokusné pečení bylo připraveno na farinografu o konstantní konsistenci 600 BJ. Recepturu tvoří pšeničná mouka světlá (100%), droždí lisované (4%), sůl (1,7%), cukr (1,5%), tuk (1%) a voda pro dosažení požadované konsistence. Zlepšovací přípravky byly přidávány podle doporučení výrobců ve dvou množstvích v rozsahu 50 ppm až 1% na mouku. Doba hnětení se pohybovala mezi 3,5-5 min, teplota těsta 30°C.

Maturografické měření

Maturografické zkoušení pšeničné mouky není upraveno mezinárodní normou a bylo prováděno modifikovaným uzančním postupem podle doporučení výrobce (Brabender, SRN) a podle informací z literatury.

Vzorek těsta (155 g) se ihned po vymísení umístil do fermentačního prostoru maturografu s teplotou 30°C a rel.vlhkostí 95%. Doba standardního zrání (45 min) byla po 20 a 30 min přerušena přetužením ve speciálním skulovacím zařízení. Potom byla hmotnost těsta upravena na 150 g a po závěrečném přetužení se klonek těsta vložil v měřící nádobce pod zatěžovací element. V průběhu zkoušky je vzorek zatěžován ve dvouminutových intervalech závažím na kladce a po jeho odlehčení se těsto podle svých vlastností vrací k původnímu stavu Výsledkem je zigzag křivka-maturogram. Průběh křivky charakterizuje změnu objemu těsta a jeho viskoelastických vlastností během dokynutí čtyřmi uzančními charakteristikami.

Pekařský pokus

Těsto vyrobené na farinografu pro maturografickou zkoušku bylo současně použito pro standardní pekařský pokus. Vzorek těsta byl po zrání v kynárně (teplota 30°C, rel. vlhkost 95%) rozdělen na 4 klonky (hmotnost 70 g, ruční tvarování) a doba kynutí byla standardní 50 min za podmínek jako při zrání. Pečení probíhalo v pekařské peci se zapařováním po dobu 14 min při teplotě 240°C.

Pečivo bylo hodnoceno po dvou hodinách chlazení při laboratorní teplotě. Z hmotnosti a objemu výrobků byl vypočítán průměrný měrný objem na 100 g a tvar pečiva byl popsán poměrem výšky a průměru (v/d). Při senzorickém hodnocení byly body (1-3) posouzeny kůrka a střídka pečiva podle interního předpisu obsahujícího 9 jakostních kriterií. Nejvyšší spotřebitelské kvalitě odpovídá 9 bodů.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jakostní znaky 2 vzorků pšeničných mouk (M1, M2) použité pro všechny zkoušky (**Tab.II**) představují pekařsky standardní kvalitu, odpovídající sklizni roku 2000. Obě mouky mají srovnatelné analytické charakteristiky a podle reologického chování lze vzorek M2 označit za pekařsky silnější, tedy kvalitnější.

Tab. II Hodnocení jakosti testovaných mouk

		MOUKA 1	MOUKA 2
Analytické ukazatele mouk	Vlhkost (%)	11,2	11,8
	Popel (%)	0,59	0,6
	Mokrý lepek (%)	36,9	37,1
	Bílkoviny (%)	13,0	12,9
	Zelenyho test (ml)	39	34
	Číslo poklesu (s)	269	267
	Granulace 257/162 (%)	99,9/92,5	99,6/93,0
Farinografické ukazatele mouk	Vaznost (%)	56,1	56,4
	Doba vývinu (min)	1,75	2,0
	Doba stability (min)	6,25	8,5
	Pokles konzistence (BJ)	70	50
Extenzografické ukazatele mouk	Maximum (EJ)	545	650
	Odpor těsta (EJ)	320	310
	Tažnost těsta (mm)	194	208
	Poměr v/d (1)	1,65	1,49
	Energie těsta (cm^2)	136	146
Amylografické ukazatele mouk	Teplota při max. (°C)	77	77
	Maximum viskozity (BJ)	220	220

Vyhodnocení maturogramů pšeničných mouk a jejich fortifikace 6 druhy zlepšovacích přípravků uvádí **Tab.III**. Maturografické parametry potvrzují skutečnost, že mouka M1je pekařsky slabší a pro optimální zpracování vyžaduje delší dobu dokynutí a jeho stabilita je kratší. Zlepšovací přípravky ovlivňují dobu dokynutí diferencovaně. Pro průmyslovou výrobu žádoucí zkrácení optimální doby dokynutí je patrné vlivem přípravků Veron CLX a Superzyme, zatímco prodloužení způsobil přídavek Ramilexu a Grindamylu PR 59, zejména v kombinaci s pekařsky slabší moukou M1. Stabilita optimální doby dokynutí byla prodloužena vlivem všech testovaných zlepšovacích přípravků a to výrazněji u mouky M1. Maturografické charakteristiky popisující viskoelastické vlastnosti těsta při dokynutí označené jako pevnost struktury a odpor těsta se vlivem přídavků testovaných přípravků mění méně výrazně .Výjimkou je účinek Ramilexu na zpevnění těsta a Veronu CLX na snížení pružnosti těsta u obou vzorků mouk.

Tab. III Maturografické hodnocení vlivu zlepšujících přípravků

Přípravek č.	**MOUKA 1**								**MOUKA 2**							
	Doba dokynutí (min)		**Odpor těsta (MJ)**		**Pevnost struktury těsta (MJ)**		**Stabilita kynutí (min)**		**Doba dokynutí (min)**		**Odpor těsta (MJ)**		**Pevnost struktury těsta (MJ)**		**Stabilita kynutí (min)**	
	A	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**
1	32	31	680	670	240	250	11	15	26	35	630	580	250	260	12	14
2	36	N	615	540	200	200	8	14	36	38	640	560	230	240	10	11
3	36	38	780	790	260	240	11	10	32	41	690	720	240	240	11	15
4	40	36	590	590	240	260	9	9	36	29	640	500	260	240	6	9
5	32	29	505	480	230	220	12	12	31	29	500	505	230	250	11	9

6	46	48	980	N	265	N	9	12	42	44	830	N	265	N	11	N

A…..nižší přídavek zlepšujícího přípravku
B…..vyšší přídavek zlepšujícího přípravku

Průměrné výsledky pekařských pokusů, hodnocené měrným objemem na 100 g výrobku, tvarem výrobku (popis poměrovým číslem v/d) a bodovým senzorickým posouzením uvádí **Tab.IV.** Obě základní mouky poskytovaly při laboratorním pokusu pečivo průměrného měrného objemu a standardního tvaru. Senzorickým posouzením lze za kvalitnější označit výrobky z mouky M2. Přídavky zlepšovacích přípravků bylo zjištěno zvýšení objemu a zlepšení tvaru finálních výrobku při zachování senzorické kvality. Zvýšení měrného objemu pečiva v průměru o 13-25 % bylo zjištěno přídavkem přípravku Mulgaprime 16, Alphamalt A7003 a zejména Veron CLX . Tvar pečiva vyrobeného z obou mouk nejvíce zlepšil přídavek Ramilexu , pozitivní je účinek i ostatních testovaných přípravků.

Tab. IV Vliv zlepšujících přípravků na výsledek pokusného pečení

Přípravek č.	**MOUKA 1**						**MOUKA 2**					
	Měrný objem (ml/100g)		**Poměr v/d**		**Senzorické hodnocení (body celkem)**		**Měrný objem (ml/100g)**		**Poměr v/d**		**Senzorické hodnocení (body celkem)**	
	A	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**	**A**	**B**
1	343	360	0,75	0,80	10	10	361	362	0,80	0,87	11	11
2	344	371	0,85	0,85	12	11	388	378	0,75	0,63	11	11
3	366	399	0,82	0,80	10	9	350	360	0,85	0,85	13	11
4	362	361	0,67	0,65	12	12	439	413	0,65	0,63	11	12
5	386	405	0,63	0,62	12	12	396	398	0,66	0,65	12	12
6	366	345	0,86	0,86	10	10	330	355	0,92	0,88	10	10

A…..nižší přídavek zlepšujícího přípravku
B…..vyšší přídavek zlepšujícího přípravku

ZÁVĚRY

Maturografické stanovení doplňuje komplexní hodnocení jakosti pšeničné mouky pomocí Brabenderových reologických přístrojů o popis chování fermentovaného těsta při dokynutí.
Pokusné pečení patří k přímým metodám popisu vlastností pšeničné mouky a při standardizovaném postupu umožňuje simulovat v laboratorních podmínkách celý technologický proces průmyslové výroby.
Maturografem bylo prokázáno působení přídavku pekařských zlepšovacích přípravků na dobu dokynutí a na finální výrobky. Pro praxi je důležité zjištění, že zlepšovací přípravky mohou zkrátit nebo prodloužit optimální dobu dokynutí a při jejich přidávání je nutno přizpůsobit technologické časy výrobních linek. Zlepšovací přípravky mají pozitivní vliv na jakost finálních výrobků podle druhu aktivní látky, výrobce přípravku a jakosti mouky, která je obohacena.

Literatura:

1. Brabender C.W.,Schafer W.(1971):Neue Ergebnisse Teigrheologischer Untersuchungsverfahren, Muehle 108 (6),69-71,101-103.
2. Bloksma A.,H. (1990):Rheology of the Breadmaking Process,Cereal F.World 35 (2),228-236.

VYUŽITÍ KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZY PŘI ANALÝZE NÁHRADNÍCH SLADIDEL PŘÍRODNÍHO PŮVODU

Vespalcová M., Horáková H., Svobodová A., Zdařilová A., Zemanová J., Drdák M.
Ústav chemie potravin a biotechnologií, Fakulta chemická VUT, Purkyňova 118, 612 00 Brno

Náhradní sladidla jsou skupinou potravinářských aditiv, která je v posledních letech stále více rozšiřována a využívána. Pozornost je zaměřena zejména na náhradní sladidla nevýživová. Substituce tradiční sacharosy některým z nevýživových sladidel je jednou z cest jak snížit energetickou hodnotu potravin. Výrobky se sníženým obsahem energie jsou na potravinářském trhu stále více žádány. Důvodem k tomu je jednak prudce narůstající obezita populace a s obezitou spojená řada civilizačních nemocí (kardiovaskulární onemocnění, kloubní potíže apod.). Jednak rozšiřující se počty vyznavačů tzv. zdravého životního stylu, kteří nízkokalorické potraviny konzumují v rámci prevence proti výše zmíněným civilizačním chorobám.

Náhradní nevýživová sladidla syntetická (např. sacharin, cyklamát, aspartam) jsou levná a proto i velmi rozšířená. Nemusí však být vhodná pro určité zdravotní rizikové skupiny obyvatelstva (např. aspartam pro fenylketonuriky). Navíc některá z nich jsou mezi lékaři anebo v zahraničí stále považována za zdraví ohrožující (např. sacharin). Zejména však všeobecný návrat k přírodním produktům v mnoha oblastech života je příčinou, proč se mezi nevýživovými sladidly stále více prosazují sladké látky přírodního původu. Mezi takové sloučeniny patří neohesperidin-dihydrochalkon, steviosid a thaumatin.

Použití těchto přírodních sladidel v nejrůznějších potravinách a potravinových doplňcích stejně jako jejich aplikace v léčivech vyžaduje vypracovat nové, tj. rychlé ekonomické a ekologické postupy jejich rutinní analytické kontroly. K takovému účelu jsou mimořádně vhodné nejrůznější techniky kapilární elektroforézy, např. kapilární zónová elektroforéza (CZE) a izotachoforéza (ITP).

Experimenty byly provedeny na následujících přístrojích:

CZE sestava: PrinCE 460 autosampler, Prince Technologies B.V., Emmen, Holandsko
detektor Spectra System UV2000, Thermo Finnigan, San Jose, USA
vybaveným detekční celou pro kapilární elektroforézu
sběr a vyhodnocení dat - PC vybavený softwarem CSW 1.7 DataApex, Praha, ČR

ITP: CS kapilární elektroforetický analyzátor EA 100, Villa Labeco, Spišská Nová ves, Slovensko
detekce – vodivostní
sběr a vyhodnocení dat - PC vybavený softwarem CSW 1.7 DataApex, Praha, ČR
kapiláry - předseparační 160 x 0,8 mm a analytická 90 x 0,3 mm, FEP
zapojené do jednosystémového modu

Použité chemikálie byly čistoty p.a., případně speciální. Komerční vzorky thaumatinu a neohesperidindihydrochalkonu byly čistoty 95% a vyšší, steviosid pouze 90%.

Neohesperidindihydrochalkon (NHDC) E 957

Je až 1800x sladší než 10% ní roztok sacharosy. Vykazuje synergický efekt s ostatními sladidly. Prahová koncentrace pro vnímání sladké chuti NHDC je 5 ppm. Má vlastnosti chuťového modifikátoru (již v podprahových koncentracích maskuje hořkou a slanou chuť). Při vyšších koncentracích má slabou příchuť mentolu a lékořice. Je vhodný pro diabetiky i fenylketonuriky. Nezpůsobuje zubní kaz. Je povolen vyhláškou 53/2002 Sb. Ministerstva zdravotnictví ČR

Jeho přírodním zdrojem je *Citrus paradisi* a *Citrus aurantium*.

Schéma výroby NHDC: kůra citrusů
⇓ izolace
neohesperidin nebo naringin (oba hořké)
⇓ hydrogenace
NHDC (sladký)

Byly hledány vhodné izotachoforetické podmínky pro separaci NHDC. Následující tabulka uvádí 3 systémy elektrolytů, které lze s úspěchem k tomuto účelu použít:

číslo systému	vedoucí elektrolyt	koncový elektrolyt
1	15 mM HCl + arginin + 0,2% PEG, pH 8,8	15 mM EACA + $Ba(OH)_2$ + 0,2% PEG, pH 9,4
2	15 mM HCl + arginin + 0,2% PEG, pH 8,8	15 mM EACA + $Ba(OH)_2$ + 0,2% PEG, pH 10,6
3	15 mM HCl +ammediol + 0,2% PEG, pH 9,2	15 mM EACA + $Ba(OH)_2$ + 0,2% PEG, pH 10,6

Pozn.: systémy č. 2 a 3 obsahovaly 30% methanolu

Všechny uvedené elektrolytové systémy byly ověřeny na modelových vzorcích NHDC a konzervačních látek (kyselina sorbová a benzoová).

Steviosid E 960

Jeho sladivost je 300x vyšší než sladivost 10% roztoku sacharosy. S některými sladidly vykazuje synergický efekt. Při vyšších koncentracích jeho sladká chuť přechází v hořkou. Stejně jako NHDC je i steviosid vhodný pro diabetiky a fenylketonuriky. Nepodporuje vznik zubního kazu a inhibuje růst některých mikroorganizmů. Vitamin C se v jeho přítomnosti rozpadá pomaleji.

Přírodním zdrojem steviosidu je keřovitá bylina Stévie cukerná, *Stevia rebaudiana Bertoni,* čeleď Asteraceae, která pochází z povodí řeky Rio Monday na hranici Brazílie a Paraguaye.

Steviosid se používá buď jako rekrystalovaný prášek nebo ve formě čištěného vodného extraktu. Sladit lze také sušenými lístky stévie, které se přidávají. k čajovým směsím.

V ČR steviosid není zatím povolen, ale v mnoha zahradnictvích je možno koupit sazenice stévie.

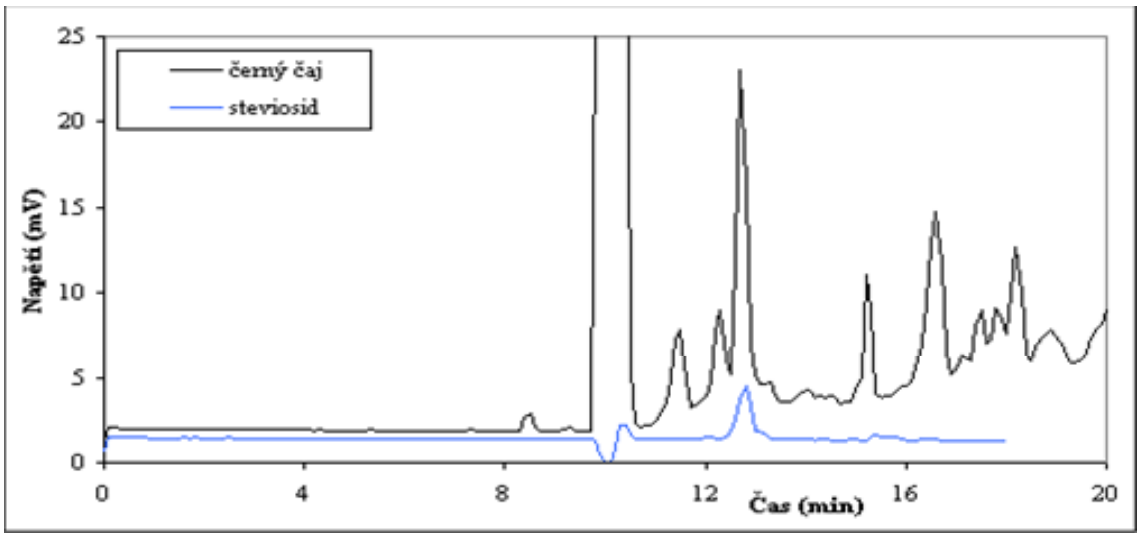
Steviosid čínské provenience o čistotě pouze 90% byl separován CZE. K pohybu jeho molekuly, která za běžných pH není ionizována, bylo využito dvou principů:
a) tvorby nabitých micel – přídavkem dodecylsulfátu sodného (SDS)
b) vzniku nabitých komlexů - borátový pufr tvoří se sacharidy nabité komplexy.

Testované elektrolytové systémy

základní elektrolyt	koncentrace (mM)	modifikátor	testovaná pH
borát	25 a 50	SDS	8,0 a 9,0
borát	5, 10, 20, 50	-	8,3; 9,0 a 9,5
tetraboritan	25, 50, 75, 100	MeOH, AcCN	9,4 a 10,0

Nejlepší separace bylo dosaženo v elektrolytech tetraboritan/Na^+ s přídavkem methanolu. Tyto systémy byly ověřeny na analýzách čajů slazených steviosidem.

Optimální podmínky separace
elektrolyt: tetraboritan/Na^+ 0,075 mM a 5 % MeOH, pH 9,6
kapilára: ID 75 µm, efektivní délka 48,5 cm (celková 75,5)
napětí: 14 a 16 kV
detekce: UV při $\lambda = 210$ nm



Elektroforeogram čaje slazeného sušenými lístky stévie

Thaumatin E 957

Je až 3 000x sladší než 10% roztok sacharosy, je označován za nejsladší známou látku. Vykazuje synergický efekt s dalšími sladidly. Prahová koncentrace thaumatinu je1 ppm. Maskuje hořkou a kovovou pachuť, zesiluje vnímání aromat. Při vyšších koncentracích má slabou lékořicovou příchuť. Stejně jako obě předcházející sladidla je vhodný pro diabetiky a fenylketonuriky a taktéž nepodporuje vznik zubního kazu. V ČR je povolen vyhláškou 53/2002 Sb. ministerstva zdravotnictví.

Přírodním zdrojem thaumatinu je drobný keřík *Thaumatococcus danielli*, čeleď maranthovité, volně rostoucí v pralesích střední Afriky. Čistý thaumatin se izoluje z plodů šlechtěných rostlin, které dozrávají na plantážích v Ghaně, Lybii a Malajsii. Jsou patentovány postupy získávání thaumatinu z geneticky upravených kvasinek i vyšších rostlin.

Ve srovnání s plošnými elektroforetickými technikami (např. SDS – PAGE) umožňuje CZE významně zkrátit dobu separace thaumatinu.

K separaci byla použita křemenná kapilára o ID 75 µm. Protože thaumatin je silně bazická bílkovina (pI 12) a na stěnu kapiláry se silně sorboval, byl vnitřní povrch kapiláry pokryt vrstvou polyakrylamidu.

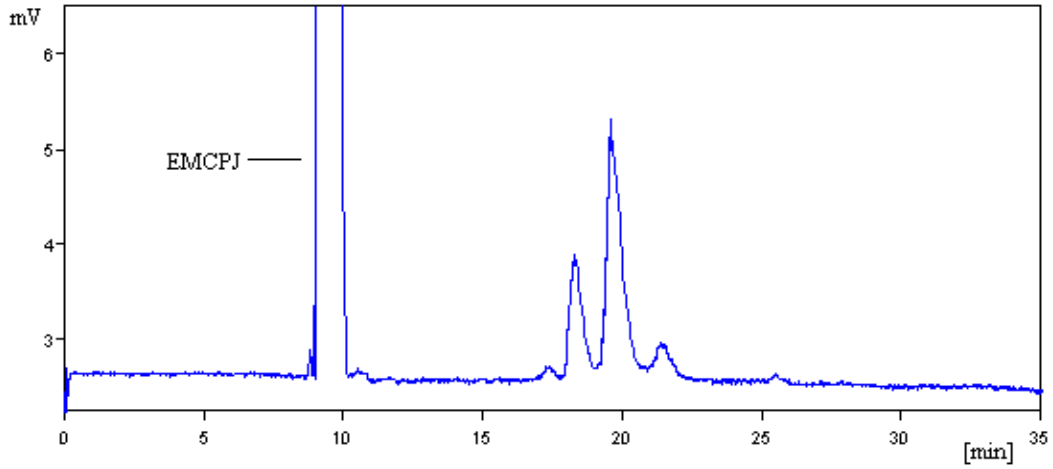
Separace thaumatinu byla testována v následujících elektrolytech:

pH	koncentrace	zákl. elektrolyt
2,0	48,9 mM	H_3PO_4
3,0	48,9 mM	H_3PO_4
4,5	50,0 mM	kys. octová
	56,0 mM	kys. octová
6,0	50,0 mM	MES
7,0	50,0 mM	MOPS

Jako vzorek thaumatinu byl použit komerční preparát, který obsahoval kromě dvou majoritních jednotek (thaumatin I a II) ještě 2 – 3 sladké proteiny.

Nejlepším z testovaných systémů byla kyselina octová (pH 4,5). Počet separovaných zón odpovídal složení použitého komerčního preparátu.

Optimální podmínky separace
elektrolyt: acetátový pufr/ethylendiamin, pH 4,5
kapilára: efektivní délka 50 cm (celková 75 cm)
napětí: 20 kV
detekce: UV při $\lambda = 280$ nm
ke vzorku thaumatinu byl přidáván mobilitní standard (EMCPJ)



Separace komerčního thaumatinu

Uvedená náhradní sladidla přírodního původu (NHDC, steviosid i thaumatin) jsou sloučeniny s velmi rozdílnou chemickou strukturou. Prezentované výsledky ukazují, že všechna tato sladidla lze úspěšně separovat kapilárními elektroforetickými technikami.

Literatura:

1. T. Pérez-Ruiz, C. Martínez-Lozano, V. Tomás, A. Sanz, E. Bravo, Chromatographia 51 (2000) 385
2. P. Mauri, G. Catalano, C. Gardana, P. Pietta, Electrophoresis 17 (1996) 367
3. M. Witty a J.D. Higginbotham: Thaumatin, CRC Press, 1994

VERIFIKACE EXPOZIČNÍCH DÁVEK VITAMINU KOMPLEXU B Z POTRAVIN PRO ZVLÁŠTNÍ VÝŽIVU

Borkovcová I.
Státní zdravotní ústav Praha, Centrum hygieny potravinových řetězců Brno, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Je všeobecně známo, že zájem o dietární suplementy v České republice je značný.
V rámci Systému monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí byla CHPŘ SZÚ provedena studie, odhadující přívod vitaminů z potravin určených pro zvláštní výživu - z vitaminových suplementů. (J. Ruprich a kol.: Zdravotní důsledky zátěže lidského organismu cizorodými látkami z potravinových řetězců v roce 1997: odhad přívodu vitaminů a minerálních látek z potravin určených pro zvláštní výživu, 1998). Prezentované výsledky se opíraly o epidemiologické šetření, které při výpočtu expozičních dávek využívalo údajů na štítku potraviny. Častou a důležitou ingrediencí multivitaminových preparátů jsou vitaminy skupiny B. V doplňkové studii bylo zjišťováno, nakolik se shodují nebo liší deklarovaný a skutečný obsah vitaminů B v těchto přípravcích.
Bylo zvoleno 19 přípravků od 16 různých výrobců, které jsou nejčastěji používány populací ČR pro doplnění přívodu vitaminů a minerálních látek (tabulka č.1). Preparáty byly s přihlédnutím k aktuální nabídce trhu nakupovány v lékárnách na 12 místech ČR.

Tabulka č.1: Přehled analyzovaných přípravků:

Výrobce	Stát	Dovozce	Přípravek
Catus,s.ro.	ČR		Multivitamin Catus
ContractPharmacal Corporation	USA	L.A.Product s.r.o.	Multivitamin - minerál
Garden Atate Nutritionals	USA	Delpharmea, a.s.	Cem-M Multivitamin s minerály a ß-karotenem
High Standard Product Corp.	USA	Beverly Sun, s.r.o.	Multi-Vitamin-Minerál s Echinaceou
Kneipp -Werke	SRN	Liftec Global, s.r.o.	Multivitaminy + Selen
Krüger GmBH	SRN	Synthélabo Pharmac.	OMNIVIT
Léčiva a.s.	ČR		SPOFAVIT dražé
Nature´s Bounty Inc.	USA	Walmark, s.r.o.	ABC PLUS
Nature´sLife,M.K.HealthFood	USA	Alier.s.r.o.	High Potency Multi Vitamin Mineral
NP Pharma	Polsko	Soma Praha, s.r.o.	SOMA-MULTI-TROPICANA - šumivé tablety
Pharmavit, a.s.	Maďar.	Balírny Douwe Egberts	PLUSSSZ Multivitamin
Thera Tech	USA	Alier, s.r.o.	Natural Multi-Vitamin One daily with Ginseng
Veelmann Produktionsgesellsch.	SRN	Milford CZ, s.r.o.	HUXOL-šumivé tablety MULTIVITAMIN
Vitar, s.r.o.	ČR		REVITAL MULTI
Walmark, s.r.o.	ČR		ABC SPEKTRUM
Walmark, s.r.o.	ČR		Marťánci
Walmark, s.r.o.	ČR		ŽENŠEN SPEKTRUM
ProFitness	Kanada	ProFitness ČR, s.r.o.	Full Spectrum, Multivitamin
ProFitness	Kanada	ProFitness ČR, s.r.o.	STRESS B-COMPLEX WITH VITAMIN C

Pro stanovení vybraných vitaminů skupiny B (B1, B2, B6, niacin, niacinamid a kyselina listová) v multivitaminových preparátech bylo použito HPLC na reverzní fázi s gradientovou elucí, iontově-párovým činidlem a UV/DAD detekcí.
Ve všech zkoumaných přípravcích byly uvedené vitaminy přítomny. V převážné většině případů byly deklarované hodnoty s analyticky zjištěnými v dobré shodě, výrazně nižší obsah vitaminů B2 a B6 byl zjištěn u dvou preparátů, u dalších dvou preparátů byl nižší obsah u 4 ze stanovovaných vitaminů, a to B1, B2, B6 a niacinu. Deklarované a stanovené hodnoty vybraných vitaminů B v mg/tabletu uvádí tabulka č.2.

Tabulka č. 2:

vitamin	**minimum**	**průměr**	**medián**	**90 percentil**	**maximum**
B1 deklarováno	1,00	1,84	1,50	2,25	7,50
B1 stanoveno	0,66	1,67	1,49	2,27	6,67
B2 deklarováno	1,00	3,01	1,70	2,60	25,0
B2 stanoveno	0,87	2,01	1,75	2,46	9,75
B6 deklarováno	1,00	2,28	2,00	3,00	9,50
B6 stanoveno	0,93	2,15	1,89	3,38	7,40
niacin deklarováno	3,60	17,5	18,0	20,0	50,0
niacin stanoveno	2,85	16,1	15,2	20,8	47,5
kyselina listová deklarováno	0,01	0,30	0,40	0,40	0,40
kyselina listová stanoveno	0,01	0,27	0,26	0,40	0,45

VPLYV TECHNOLÓGIE NA OBSAH KYSELINY LISTOVEJ A BIOTÍNU V RASTLINNÝCH POTRAVINÁCH

Macová, E., Krkošková B.
Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava

Úvod

Kyselina listová a jej biologicky aktívne deriváty (folacín, foláty) sú dôležité pri krvotvorbe, raste a reprodukcii buniek, čo znamená, že najnápadnejším prejavom ich nedostatku sú poruchy krvotvorby (chudokrvnosť). V súčasnom období sa pozornosť sústreďuje na význam folátov pre ženy počas gravidity. Nové poznatky potvrdzujú, že saturácia organizmu ženy v čase gravidity do značnej miery rozhoduje o vzniku väčšiny vývojových chýb, ako sú defekty neurálnej trubice, predovšetkým spina bifida (rázštep chrbtice). Posledné výskumy ukázali, že kyselina listová má vplyv na znižovanie celkového plazmového homocysteínu, ktorý je rizikovým faktorom kardiovaskulárnych ochorení. Je známe, že homocysteín má tiež súvislosť s Alzheimerovou chorobou. Kyselina listová sa uplatňuje i v prevencii niektorých foriem karcinómov. Traduje sa, že obsah kyseliny listovej v potrave je dostatočný. To súvisí s tým, že rôzne látky zahrňované pod pojem „vitamín B“ sú hodnotené ako celok. Vo vzťahu k samotnej kyseline listovej však nie je takáto predstava úplne správna. Denný príjem kyseliny listovej by mal byť aspoň 400 µg. V prírodných produktoch je kyselina listová prítomná v podobe folátov, ktorých biologická využiteľnosť nepresahuje 30 -50 %. Je to dané tým, že časť folátov je znehodnocovaná pri skladovaní, varení a tým, že ich prirodzená polyglutamátová forma nie je vstrebateľná a musí sa v gastro - intestinálnom trakte degradovať na monoglutamátovú.
Biotín (vitamín H) produkujú v ľudskom organizme črevné baktérie. Je potrebný pre rozklad mastných kyselín a sacharidov, pre tvorbu tuku a pre vylučovanie rozpadných produktov bielkovín. Jeho nedostatok sa prejavuje slabosťou, únavou, znížením chuti do jedla, vypadávaním vlasov a depresiami. Môže k nemu dochádzať po vysokej konzumácii vaječných bielkov, po dlhodobej liečbe antibiotikami a inými protimikrobiálnymi liekmi. Denný príjem 100-200 µg pokrýva potrebu organizmu.

Materiál a metódy

Predmetom etapy riešenej výskumnej úlohy je určenie zmien obsahu kyseliny listovej a biotínu pri tepelnom opracovaní vybraných druhov zeleniny a strukovím použitím imunodiagnostických metód. Imunodiagnostické techniky nadobúdajú stále väčšie použitie v analýze potravín. Súčasné imunodiagnostické metódy umožňujú ich rýchle a špecifické stanovenie, už pri koncentráciách rádovo ng/ml.
Experimentálne práce boli zamerané na zisťovanie obsahu kyseliny listovej a biotínu vo vzorkách potravín rastlinného pôvodu a sledovanie účinku tepelného opracovania na zmeny ich obsahu.
Materiálom pre experimentálne práce boli potraviny rastlinného pôvodu:
vzorky suchého hrachu, pri rôznom spôsobe predbežnej úpravy a po odlišnom tepelnom opracovaní (namáčanie, dezintegrácia, varenie v mikrovlnke, vo vode), rôzne odrody fazule, sója, šošovica a vybrané druhy listovej a koreňovej zeleniny. Obsah kyseliny listovej sme zisťovali tiež v čerstvej pomarančovej šťave a v komerčných pomarančových šťavách. Obsah biotínu sme sledovali aj v ryži, v hubách, gaštanoch a orechoch.
Z postupov tepelného opracovania sa sledoval účinok blanšírovania, varenia, pečenia a vo vybraných druhoch aj účinok zmrazovania a skladovania.

Výsledky a diskusia

Výsledky sledovania obsahu kyseliny listovej a biotínu sú zhrnuté v nasledujúcich tabuľkách

Tabuľka č. 1: Obsah kyseliny listovej a biotínu vo vybraných strukovinách

Spôsob úpravy strukoviny	Obsah kyseliny listovej [μg/100 g]	Obsah biotínu [μg/100 g]
Suchý hrach	31,7	4,1
Nabobtnaný hrach surový	5,6	3,9
Nabobtnaný hrach uvarený	18,7	3,9
Suchý varený hrach	11,4	4,1
Biela fazuľa	24,1	7,1
Nabobtnaná surová biela fazuľa	4,3	3,3
Uvarená s namáčacou vodou	9,7	3,1
Strakatá fazuľa	21,4	10,4
Nabobtnaná surová strakatá fazuľa	16,7	5,6
Uvarená s namáčacou vodou	18,3	4,4
Sója suchá	34,3	5,6
Zelená mrazená sója	20,9	2,1
Žltá mrazená sója	43,9	1,6
Uvarené sójové bôby	4,7	2,9

Ako z tabuľky vidieť, najviac kyseliny listovej obsahujú suché strukoviny fazuľa, sója a hrach. Zistené hodnoty obsahu kyseliny listovej v prípade sóje preukazujú zvyšovanie jej obsahu v procese zrenia. Zo sledovaných potravín sa najvyšší obsah biotínu zistil v surovej suchej fazuli a pomerne vysoký obsah biotínu sa stanovil aj v sóji. Najšetrnejšia kulinárska úprava z hľadiska zachovania kyseliny listovej i biotínu sa javí varenie vopred namočených
strukovín spolu s namáčacou vodou.

Tabuľka č. 2: obsah kyseliny listovej vo vybraných druhoch zeleniny

Druh zeleniny	Obsah kyseliny listovej [μg/100 g]
Zelerová vňať	28,7
Kučeravá petržlen. Vňať	14,9
Ligurček	19,3
Šalát hlávkový jesenný	24,5
Šalát hlávkový jarný	20,8
Čínska kapusta surová	15,1
Kapusta biela surová	22,7
Kapusta biela dusená	18,0
Kel surový	29,5
Kel dusený	22,7
Špenát surový	14,9
Špenát blanšírovaný	14,8
Mrazený blanšírovaný špenát	13,7

Bohatým zdrojom kyseliny listovej je aj surový kel, kapusta, šalát, špenát a vňate. Po tepelnej úprave dochádza k miernemu poklesu obsahu kyseliny listovej.

Obsah kyseliny listovej sme zisťovali aj v pomarančoch a vo výrobkoch z nich

Tabuľka č. 3. Obsah kyseliny listovej v pomarančovej šťave

Produkt	Obsah kyseliny listovej [μg/100 g]
Čerstvá pomarančová šťava	15,7
Pom. šťava pasterizovaná 30 min. pri 80 ^{o}C	11,8
Cappy 100 % pomarančová šťava	12,4
Toma 100 % pomarančová šťava	15,7
RIO 100 % pomarančová šťava	21,1

Ako vidieť z tabuľky č. 3 šťava z čerstvého pomaranča i priemyselne vyrobené pomarančové šťavy sú významným zdrojom kyseliny listovej.

Obsah biotínu sme okrem uvedených strukovín zisťovali aj vo vybraných druhoch zeleniny Na základe stanovenia biotínu vo vybraných druhoch zeleniny sme zistili, že najbohatším zdrojom biotínu je mrkva a karfiol. U týchto druhov sme zisťovali zmeny obsahu biotínu v priebehu technologického spracovania.

Tabuľka č. 4: Obsah biotínu vo vybraných druhoch zeleniny

Druh zeleniny	Obsah biotínu [μg/100 g]
Skorá mrkva surová	9,3
Skorá mrkva blanšírovaná	8,3
Skorá mrkva blanšírovaná mrazená	4,9
Neskorá mrkva surová	8,8
Neskorá mrkva blanšírovaná	7,9
Neskorá mrkva blanšírovaná mrazená	4,6
Karfiol surový	3,1
Mrazený karfiol	2,7
Blanšírovaný karfiol 5 min.	3,1
Varený karfiol 40 min.	3,0
Surová brokolica	3,4
Blanšírovaná brokolica	0,9
Surové zemiaky	4,4
Blanšírované zemiaky	2,8
Zemiaky varené v šupke	3,7
Paradajka surová	4,0
Paradajka blanšírovaná	1,7

Na základe výsledkov v tabuľke možno konštatovať, že blanšírovaním sa obsah biotínu mení len v nepatrnej miere alebo vôbec. Mrazenie a následné mraziarenské skladovanie spôsobujú už preukazné zníženie obsahu biotínu.

Obsah biotínu sme zisťovali aj u niektorých zástupcov potravinovej skupiny orechy a semená

Tabuľka č. 5: Obsah biotínu v orechoch a gaštanoch

Druh zeleniny	Obsah biotínu [μg/100 g]
Gaštan surový	2,5
Gaštan varený 10 min.	2,3
Gaštan pečený 15 min. pri 200 ^{o}C	0,5
Lieskovec surový	4,6
Lieskovec pečený 15 min. pri 200 ^{o}C	3,2
Vlašský orech surový	6,3
Vlašský orech pečený 15 min. pri 200 ^{o}C	2,3

Vysoký obsah biotínu sa zistil tiež vo vlašských orechoch i v plodoch liesky veľkoplodej. V obidvoch prípadoch sa po upečení jeho obsah mierne znížil. Z hľadiska zachovania biotínu v jedlých gaštanoch sa ako vhodnejšie ukázalo varenie vo vode.
Štúdium kinetiky zmien obsahu kyseliny listovej a biotínu pokračuje záverečným vyhodnocovaním.

Literatúra

Krkošková B. a kol.: Dynamika zmien nutrientov a antinutričných látok v priebehu technologického spracovania
[Výskumná správa] Bratislava, VÚP, 2000, s. 10

Krkošková, B. – Macová, E.: Vplyv tepelného opracovania strukovín na zmeny bielkovinovej frakcie a obsah kyseliny listovej, In: Sborník souhrnů sdelení XXXI. Symposia o nových směrech výroby a hodnocení potravin, Skalský Dvůr, Česká společnost chemická, 2000, s. 8

Macová, E. - Krkošková, B., Využitie imunodiagnostických metód v analýze potravín
In: Zborník prednášok z XIII. Medzinárodnej konferencie o analytických metódach v potravinárstve LABORALIM 2001, Banská Bystrica, 2001, s. 161 - 164.

VÝŽIVA A ZDRAVÍ - SOCIOLOGICKÝ PRŮZKUM.

Dostálová J.[1], Slanina P.[2], Hajšlová J.[1], Kocourek V.[1], Cuhra P.[3], Staňková J.[4]
1-Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
2-National Food Administration, Uppsala, Švédsko
3-Česká zemědělská a potravinářská inspekce, Za opravnou 4, 150 06 Praha 5
4-Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

V našem sdělení uvádíme některé výsledky sociologického průzkumu "Výživa a zdraví - vnímání a náhledy na rizika z potravin", který se uskutečnil na přelomu roku 2000 a 2001 a kterého se zúčastnilo 1631 osob (107 studentů VŠCHT, 104 odborníků z oblasti výživy a potravin a 1420 čtenářů časopisu TEST). Základní charakteristika souboru je v tabulce č.1. V dotazníku bylo celkem 30 otázek charakterizujících respondenty. Koncepce dotazníku použitého v tomto průzkumu vycházela z dotazníku, který byl použit v roce 1995 ve Švédsku na representativním vzorku populace. Některé otázky byly přizpůsobeny našim podmínkám a dotazování proběhlo v několika konkrétních skupinách.
Cílem studie bylo především zmapovat postoje konzumentů k potravinám, resp. vnímání rizik spojených s potravinami, názory na kvalitu potravin a zjištění některých aspektů jejich výživového chování. Získané výsledky mohou sloužit jako podkladový materiál pro organizace zabývající se vzděláváním a osvětou a rovněž pro postup při zveřejňování výsledků kontrolních analýz potravin. Ve Švédsku byly již výsledky průzkumu v tomto směru použity.
Dotazník, sestával celkem z 59 otázek, z nichž některé obsahovaly řadu podotázek, takže vyplňování dotazníku bylo poměrně časově náročné a to zřejmě negativně ovlivnilo návratnost dotazníků.
Na tomto místě uvedeme pouze výsledky týkající se názorů na kvalitu a cenu potravin a vnímání některých rizik z potravin.
S kvalitou potravin na našem trhu jsou spotřebitelé poměrně spokojeni. Ve skupině studentů odpovědělo 94,4 % dotázaných, že jsou zcela, velmi nebo spíše spokojeni, ve skupině odborníků 88,6 % a ve skupině čtenářů 87,2 % respondentů, přičemž výrazně nejvíce odpovědělo, že jsou spíše spokojeni, to znamená, že kvalitu považují za mírně nadprůměrnou (tab.č.2).
S výživovou hodnotou jsou naši spotřebitelé spokojeni již méně. Studentů je zcela, velmi a spíše spokojeno 70,1 %, odborníků 74,0 % a čtenářů 60,1 % (tab.č.3)
České výrobky považuje za kvalitnější než dovážené 20,6 % studentů, 42,3 % odborníků a 33,6 % čtenářů. Názor, že české a dovážené potraviny jsou zhruba stejné kvality zastává 71,0 % studentů, 54,8 % odborníků a 59,0 % čtenářů (tab. č.4). Toto zjištění je pro naše výrobce potravin potěšující.
Dovážené potraviny před tuzemskými preferuje "vždy" a "většinou" pouze 7,5 % studentů, 6,7 % odborníků a 8,5 % čtenářů (tab.č.5). Většina respondentů (78,5 % studentů, 79,8 % odborníků a 82,4 % čtenářů) odpověděla, že je preferují občas nebo zřídka. Nízká preference zahraničních výrobků před domácími je zřejmě způsobena tím, že velká většina respondentů (91,6 % studentů, 97,1 % odborníků a 92,6 % čtenářů) považuje české výrobky za kvalitnější nebo stejné kvality, i když velkou roli zde jistě hraje i cena.
Dále uvedeme odpovědi týkající se ceny potravin. Na dotaz, jaký je Váš názor na ceny potravin, které konzumujete, odpovědělo 40,2 % studentů, 69,3 % odborníků a 52,9 % čtenářů, že potraviny jsou drahé. Názor, že potraviny nejsou levné ani drahé, má 58,9 % studentů, 26,9 % odborníků a 44,4 % čtenářů (tab.č.6). Názor respondentů, že naše potraviny nejsou levné, v podstatě koreluje s faktem, že u nás výdaje za potraviny tvoří výrazně vyšší podíl životních nákladů než ve vyspělých průmyslových zemích.
Se vztahem mezi kvalitou potravin a jejich cenou je spokojeno 55,2 % studentů, 36,6 % odborníků a 34,4 % čtenářů (tab.č.7). Toto zjištění není příliš potěšující pro výrobce potravin a samozřejmě i pro obchod, ale domníváme se dobře odráží současnou situaci na našem trhu s potravinami.

Jako poslední uvedeme odpovědi na dotaz jak velké riziko vzniku různých onemocnění z konzumovaného jídla respondenti odhadují (tab. č.8). Za největší rizika z konzumované stravy považovali studenti nadváhu, kardiovaskulární onemocnění, rakovinu a osteoporosu, odborníci nadváhu, kardiovaskulární onemocnění, rakovinu a kloubní onemocnění a čtenáři nadváhu, kloubní onemocnění a osteoporosu.
Uvedené výsledky představují pouze nepatrnou část výsledků. Na výzkumu dále pokračujeme a to jak v průzkumu dalších skupin respondentů, tak ve statistickém zhodnocení získaných výsledků.

Tabulka č.1. Charakteristika jednotlivých skupin respondentů.

	Pohlaví		Průměrný věk	Vzdělání		
	Muži	Ženy		ZŠ, vyučen	SŠ	VŠ
Studenti	33	67	21	1	97	2
Odborníci	21	79	44	4	43	53
Čtenáři	24	76	38	9	49	42

Tabulka č.2. Jak jste všeobecně spokojen(a) s kvalitou potravin, které jíte?

	Četnost odpovědí v %		
	Studenti	Odborníci	Čtenáři
Zcela spokojen(a)	5,6	8,7	5,9
Velmi spokojen(a)	22,4	8,7	8,0
Spíše spokojen(a)	66,4	71,2	73,3
Spíše nespokojen(a)	5,6	9,5	9,8
Velmi nespokojen(a)	0,0	1,9	2,0
Velmi silně nespokojen(a)	0,0	0,0	0,0
Nevím	0,0	0,0	1,0

Tabulka č.3. Jak jste všeobecně spokojen(a) s výživovou hodnotou potravin, které jíte?

	Četnost odpovědí v %		
	Studenti	Odborníci	Čtenáři
Zcela spokojen(a)	1,9	6,7	4,4
Velmi spokojen(a)	13,1	11,5	8,0
Spíše spokojen(a)	55,1	55,8	47,7
Ani spokojen(a), ani nespokojen(a)	18,7	17,3	26,7
Spíše nespokojen(a)	10,3	7,7	11,7
Velmi nespokojen(a)	0,9	1,0	1,5
Velmi silně nespokojen(a)	0,0	0,0	0,0

Tabulka č.4. Co si všeobecně myslíte o potravinách produkovaných v ČR ve srovnání s dováženými produkty?

	Četnost odpovědí v %		
	Studenti	Odborníci	Čtenáři
České jsou mnohem kvalitnější	5,6	13,5	9,2
České jsou o něco kvalitnější	15,0	28,8	24,4
České a dovážené jsou zhruba stejné kvality	71,0	54,8	59,0
Dovážené jsou o něco kvalitnější	8,4	1,9	7,0
Dovážené jsou mnohem kvalitnější	0,0	1,0	0,4

Tabulka č.5. Dáváte obecně přednost dováženým potravinám před tuzemskými produkty?

	Četnost odpovědí v %		
	Studenti	Odborníci	Čtenáři
Vždy	1,9	0,0	1,3
Většinou	5,6	6,7	7,2
Občas	31,8	40,4	32,1
Zřídka	46,7	39,4	50,3
Nikdy	14,0	13,5	9,1

Tabulka č.6. Jaký je Váš názor na ceny potravin, které konzumujete? Potraviny jsou:

	Četnost odpovědí v %		
	Studenti	Odborníci	Čtenáři
Extrémně levné	0,0	0,0	0,2
Velmi levné	0,0	1,9	0,3
Dosti levné	0,0	1,0	2,0
Ani levné, ani drahé	58,9	26,9	44,4
Dosti drahé	38,3	58,7	48,1
Velmi drahé	1,9	9,6	3,2
Extrémně drahé	0,0	1,0	1,6
Neodpověděli	0,9	1,0	0,2

Tabulka č.7. Domníváte se, že kvalita potravin, které kupujete, odpovídá ceně?

	Četnost odpovědí v %		
	Studenti	Odborníci	Čtenáři
Určitě ano	7,5	1,0	1,6
Spíše ano	47,7	35,6	32,8
Možná, nevím	23,3	20,2	30,2
Spíše ne	20,6	38,5	31,8
Určitě ne	0,9	2,9	3,6
Neodpověděli	0,0	1,8	0,0

Tabulka č.8. Jak velké je podle Vašeho názoru riziko z Vámi konzumovaného jídla. Odhadněte velikost rizika, zda jídlo, které jíte, může způsobit:

	Četnost odpovědí velké + extremní riziko v %		
	Studenti	Odborníci	Čtenáři
Přechodnou nevolnost	6,5	13,5	8,3
Akutní bolest žaludku	8,4	16,4	8,7
Srdeční a cévní onemocnění	13,1	24,0	11,9
Rakovinu	11,2	20,2	11,7
Poškození plodu	5,6	13,4	8,7
Psychické onemocnění	3,7	9,6	4,1
Nadváhu	23,3	37,5	25,3
Alergii	8,4	18,3	12,0
Řídnutí kostí	11,2	19,2	12,1
Všeobecnou malátnost	4,6	12,5	4,5
Potíže s klouby	6,5	20,2	13,9
Zácpu	6,6	17,3	9,1
Bolesti hlavy	3,7	11,6	6,3

EXPOZICE JÓDEM Z POTRAVIN SPOTŘEBNÍHO KOŠE ČR V LETECH 1998 - 2001

Borkovcová I., Dofková M.
Státní zdravotní ústav Praha, Centrum hygieny potravinových řetězců Brno, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Jód je stopový prvek, nezbytný pro tvorbu hormonů štítné žlázy, které zajišťují správný růst a vývoj všech tkání a orgánů, funkci mozku, nervů, svalů i rozmnožovacích orgánů. Jeho nedostatek negativně ovlivňuje psychickou a fyzickou kvalitu populace. Pro dostatečnou tvorbu hormonů štítné žlázy je rozhodující příjem jódu potravou.
Doporučená denní dávka byla vyhláškou MZ ČR č.293/1997 Sb. stanovena na 150 ug. Přívod jódu z potravin dostupných a konzumovaných v ČR je od r. 1998 sledován v rámci Monitoringu dietární expozice populace ČR chemickým látkám. Každoročně bylo sledováno 108 reprezentativních vzorků, které představovaly 195 druhů potravin v podobě 2340 individuálních vzorků. Vzorky byly analyzovány po provedených kulinárních úpravách, které zahrnovaly i dosolování jódovanou solí.
Stanovení obsahu jódu bylo prováděno po alkalickém spálení vzorku spektrofotometricky dle Sandell-Kolthoffa. Princip metody je založen na katalytickém působení jódu na redoxní reakci As^{3+}/Ce^{4+}. Mez stanovitelnosti použité analytické metody je 15 ug/kg, jód je stanovován jako celkový jód.
Nejbohatším přirozeným zdrojem jódu (ug jódu / kg potraviny) byly po celé sledované období mořské ryby. Koncentrace jódu v nich se pohybuje okolo 800 ug / kg a je poměrně stabilní. Koncentrace jódu v dalších potravinách, ve kterých byl nalezen vysoký obsah jódu, tj. v masných a pekárenských výrobcích, je rozdílná a je závislá na použití jódované soli při jejich výrobě. Např. v únoru 2002 se koncentrace jódu v analyzovaných vzorcích salámu dietního pohybovala od 195 ug / kg do 842 ug / kg, v tlačence světlé od 89 do 696 ug / kg.
Pokud zohledníme při výpočtu expozičních dávek spotřebu, nejvýznamnějšími expozičními zdroji jódu se stávají mléko a mléčné výrobky, při použití jódované soli v technologickém procesu také pekárenské a masné výrobky.
Expoziční dávky jódu zjištěné v programu Monitoringu lze rovněž porovnat s doporučeným přívodem. Hodnoty zjištěné v letech 1998, 1999 a 2001 se pohybovaly v rozmezí 160 - 172 ug / osobu / den, tedy 106 - 115% DDD.
Těchto expozičních dávek bylo dosaženo použitím jódované soli při kulinární úpravě potravin. Opětovně se potvrdilo, že při používání jódované soli pro přípravu pokrmů je možné zcela pokrýt potřebu jódu z běžných potravin. Tato zjištění jsou platná pro průměrnou českou populaci. Specifickou odezvu konkrétního organismu na přívod jódu z potravin lze pak přesně určit v souvislosti se stanovením jodurie.

BAKTOCEREÁLNÍ PREPARÁT V POKUSECH "IN VITRO" A "IN VIVO"

Erban V.[1], Vaculová K.[2], Poledne R.[3], Suchánek P.[3], Beran M.[1], Molík P.[1]
1-Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10
2-Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.
3-Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

Jednou ze statisticky nejzávažnějších příčin úmrtnosti, nejen v naší republice, jsou nemoci srdce a cév, které pravidelně doprovázejí poruchy metabolismu cholesterolu a metabolismu lipidů. Zdravotní stav lidského organismu je významně ovlivňován stavem jeho zažívacího ústrojí a metabolickými procesy, které v něm probíhají. Střevní nika je jedna z nejsložitějších ekologických nik mikrobiálního společenství, lineární fermentor s proměnnými parametry v místě i čase.
K metabolismu cholesterolu patří biochemické přeměny a koloběh žlučových kyselin (dále jen ZK - degradačního produktu krevního cholesterolu), které se působením nežádoucí střevní mikroflóry mohou dále přeměňovat na sekundární žlučové kyseliny (kyselinu deoxycholovou a kyselinu cholovou - Stellwag, Hylemon, 1979), které mimo jiné vykazují pozitivní korelaci s kolorektálním karcinomem (Gorbach a Goldin, 1990). Významným způsobem, nepřímo přes koloběh žlučových kyselin, může metabolismus cholesterolu ovlivnit střevní mikroflóra a přítomnost vlákniny ve stravě. Startérové kultury, zejména bifidobakterie, laktobacily, Streptococcus faecium a Streptococcus thermophillus (Macharáček, 1996, aj.), ovlivňují střevní mikroflóru a společně ovlivňují metabolismus žlučových kyselin a jeho prostřednictvím metabolismus a hladinu cholesterolu v krvi a játrech. Jejich širší aplikace je však znemožněna skutečností, že mléčné kultury málo kolonizují střevo, což omezuje dobu jejich zdržení ve střevě a tím i jejich dieteticko-léčebný účinek. Pozitivní (bifidogenní) vliv na tuto mikroflóru a její rozvoj ve střevech mají některé typy vláknin. Potravní vláknina cereálií, která má schopnost vytvářet vysoce viskózní roztoky (Morris et al., 1992) a tak na bázi působení fyzikálně-chemických vazeb odvádět z těla různé látky, např. volné žlučové kyseliny (ZK), tuky a škodlivé metabolity, má významnou zdravotně-preventivní roli (redukce hladiny cholesterolu, ovlivnění glykemické křivky u diabetiků II. typu, ochranné působení proti nádorům střev a prostaty, fyzikálně-chemické charakteristiky střevního obsahu, aj.). Jednotlivé vztahy žlučové kyseliny (cholesterol) - vláknina, žlučové kyseliny - střevní mikroflóra a vláknina a střevní mikroflóra jsou v literatuře popsány. Například Kahlon a Chow (2000) studovali vazbu žlučových kyselin (směs ZK, pH = 6,3) na otruby různých obilovin (rýže, pšenice, ovsa a kukuřice) a zjistili, že nejvyšší schopnost vázat ZK byla prokázána pro rýžové otruby (51%), zatímco u ostatních obilovin se zřejmě jednalo o jiný mechanismus, neboť vazba žlučových kyselin nebyla proporcionální obsahu rozpustné vlákniny.
Stejně jako při řešeni jiných biologicko-medicínských problémů používají se ve výzkumu malá laboratorní zvířata - potkani a myši (Kalra a Jood 2000). Zásadní nevýhodou těchto modelů je ale skutečnost, že oba tyto živočišné druhy mají nízké koncentrace cholesterolu v krvi a navíc je jeho podstatná část nesena ve frakci lipoproteinů vysoké hustoty (HDL až 8O %), které jsou ateroprotektivní. Ke zvýšeni cholesterolemie u potkana je nutné suplementovat dietu nejen cholesterolem, ale ještě dodat buď hepatotoxické choláty či tyroxin. V laboratoři pro výzkum aterosklerózy IKEM byla v minulosti vyšlechtěna vlastní linie Pražského hereditárně hypecholesterolemického (PHHC) potkana, který má mírně zvýšenou cholesterolemii na kontrolní dietě a při přidání 2% cholesterolu bez dalších vlivů se cholesterolemie zvyšuje trojnásobně. Rovněž složeni lipoproteinů se v této situaci velmi podobá složení u člověka s převahou atrogenních VLDL, IDL a LDL.

MATERIÁL A METODY

Vybrané mikrobiální kultury

Sbírka mlékařských kultur Laktoflora; Bifidobacter bifidum č 107, a Lactobacillus acidophilus č. 63.

Rostlinný materiál

Linie bezpluchého ječmene, označená KM2283-80, byla vytvořen křížením produktivního odnoživého šlechtitelského materiálu jarního ječmene s pluchatým zrnem, získaného ze SRN (Dr. Emmert) č. 1576 s vlastní linií jarního ječmene s bezpluchým typem zrna - KM2012-2703/92 =(VIKTOR x KM1771-360-169/6 = CEBECO 77-22 x KM1057-1924=/{[(Diamant x Rg802)xInis] x Hiproly} x High Protein/ x{[(DiamantxRg802)xInis]xHiproly}).

Zpracování zrna na BG extrakt
Surovinou pro výrobu obilného extraktu byla frakce vymílacích otrub, získaná mletím zrna uvedeného jarního ječmene bezpluchého typu v klasickém pšeničném mlýnu (maloobjemový soukromý mlýn Olšina - mlecí zařízení - bývalá fy Prokop). Vymílací otruby byly extrahovány pitnou vodou při teplotě 65°C a sušeny na sprejové sušárně Niro.

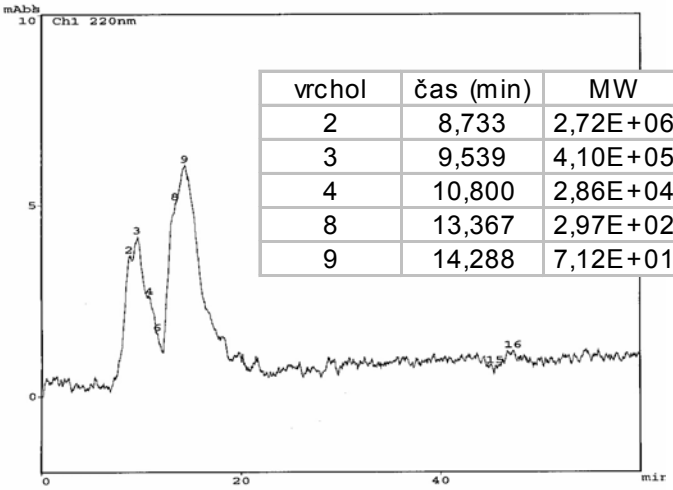
Stanovení molekulové váhy gelovou filtrací
Přístroj: HPLC chromatograf firmy Shimadzu: Liquid Chromatograph LC-10AD,Column Oven CTO-10A, Photodiode Array UV-VIS Detector SPD-M6A. Pevná fáze: chromatografická kolona fy TosoHaas: typ TSKgel GMPW, rozměr 7,5 mm ID x 30 cm, velikost částic (particle size) 17 µm, mobilní fáze: demivoda, rychlost průtoku mobilní fáze 0,500 ml za minutu, tlak 32 atmosfér, teplota kolony 60°C, deuteriová lampa v detektoru (D2), rozsah vlnových délek 200-300 nanometrů, délka chromatografického záznamu 60 minut, objem vzorku 20 µl, molekulová hmotnost, stanovena podle kalibrace sadou polulanů P82.

Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) zřeďovací metodou
Stanovení se provádí kultivací testovaného mikroorganismu v sérii tekutých medií MRS s gradientem sledovaných látek.

Stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) modifikovanou difúzní metodou
Pro pokusy byla použita standardní metoda stanovení MIC v růstovém agaru MRS (Oxoid) se specifickou modifikací: Do difúzního agaru byly přidávány různé koncentrace BG extraktu s obsahem 14,9 % BG.

Krmné pokusy na potkanech
Pro krmné pokusy byl použit heterozygotní kmen potkanů apo-E KO (vzniklý křížením homozygotů a kontrolní linie). Pro pokusy bylo použito 30 potkanů rozdělených po 5 jedincích do 6 klecí. Tři klece byly kontrolní a tři klece pokusné. Pro krmné pokusy na potkanech byla použitá standardní syntetická dieta, u které byl škrob nahrazen baktocereálním přípravkem pro pokusné potkany. U obou skupin potkanů byla hypercholesterolemie v průběhu experimentu vyvolána přídavkem 2% cholesterolu do krmiva.

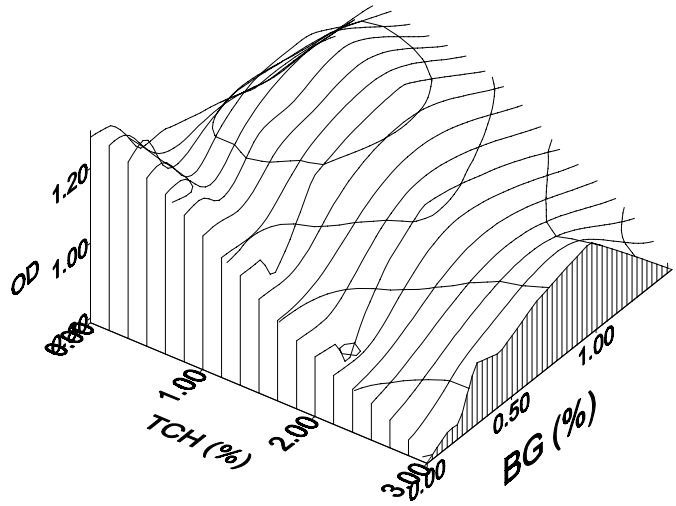
VÝSLEDKY



vrchol	čas (min)	MW	%obsahu
2	8,733	2,72E+06	16
3	9,539	4,10E+05	19
4	10,800	2,86E+04	6
8	13,367	2,97E+02	17
9	14,288	7,12E+01	40

Podle orientačního stanovení molekulové hmotnosti jednotlivých složek BG- extraktu a podle analytického procentuálního zastoupení byly vrcholy 8 a 9 identifikovány jako štěpy škrobů a vrcholy 2 a 3 odpovídají beta-glukanům a zřejmě arabinoxylanům.

Vazba žlučových kyselin na BG extrakt.
Vazba kyseliny taurocholové (TCH), která je jednou z hlavních složek žlučových kyselin na BG extrakt, byla testována dvěma odlišnými metodickými přístupy. Jednak zřeďovací metodou, při které byl sledován růst kultury při různých koncentracích kyseliny taurocholové a BG extraktu, a jednak difúzní metodou, založenou na tvorbě inhibiční zóny způsobené difúzí žlučových kyselin do agaru s MRS médiem obsahujícím různé koncentrace beta-glukanového extraktu a s citlivým kmenem 63.

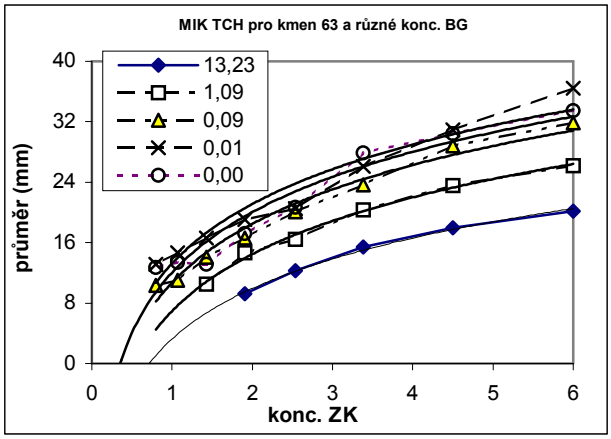


Stanovení minimální inhibiční koncentrace zřeďovací metodou

Růst kmene 107 byl použit jako míra vazby kyseliny TCH na BG extrakt. Čím větší je vazba kyseliny TCH vlákninu, tím méně je růst kultury inhibován. Pro variantu bez BG je růst kultury inhibován na 60%. Nárůst BG na 1% umožňuje ještě téměř plný růst při 1,5% TCH, a při 3% koncentraci TCH je růst kmene 107 ještě 80%.

Průkaz vazby kyseliny TCH na vlákninu pomocí minimální inhibiční koncentrace difúzní metodou

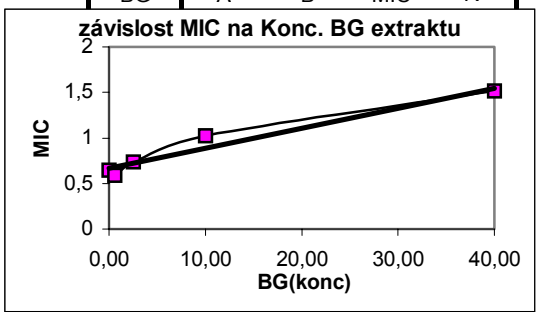
Pro účely stanovení míry vazby TCH na BG, byla použita modifikace difúzní metody stanovení MIK. Za předpokladu, že ZK mají schopnost se vázat na vlákninu, měly by se inhibiční zóny kultury v kultivačním mediu zdánlivě zmenšovat. To znamená, že by se měla zdánlivě zvětšovat MIC se vzrůstající koncentrací BG v mediu, neboť váže-li se kyselina TCH na BG v mediu, zbývá pro další difúzi TCH agaru méně volné TCH a je snížená její koncentrace v difúzním směru a tím je nižší inhibiční efekt na kulturu. Tak je možné nepřímo testovat schopnost vazby inhibiční látky na nosič.



Na obrázku jsou znázorněny velikosti zón v závislosti na koncentraci BG rozpuštěných v agarovém médiu. V tabulce jsou uvedeny jednak parametry logaritmické rovnice proložené danými body, jednak propočtená hodnota odpovídající MIC a koeficienty významnosti.

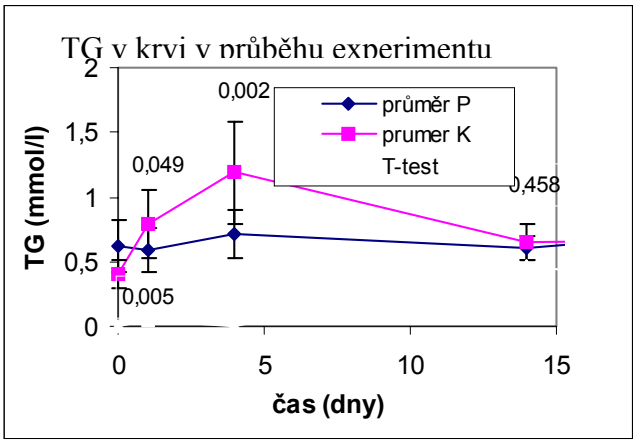
Vztah závislosti MIC na koncentraci BG
y = ALn(x) + B

BG	A	B	MIC	R^2

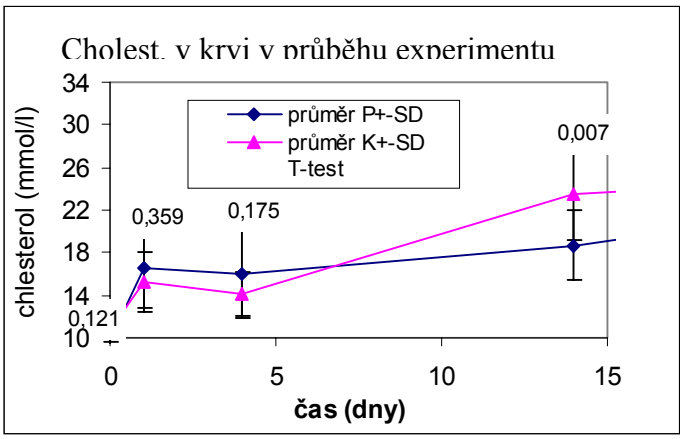


Vztah mezi MIC a koncentrací BG je zachycen na grafu „Závislost MIC na Koncentraci BG“. Z proložené přímky je patrné, že vztah mezi koncentrací BG a MIK odpovídá dobré lineární shodě. Z bilanční rovnice vyplývá, že každé procento BG extraktu o obsahu 14,9% se MIK zvětší o 2.2%.Vztah mezi koncentrací extraktu obsahujícího 14,9% BG a MIC popisuje přímka MIC = 0,0218BG + 0,6728 (R^2 = **0,949).**

Vliv baktocereálního přípravku (kombinovaného přípravku BG extraktu s probiotickou kulturou) na triglyceridy a krevní cholesterol u potkanů.



Triglyceridy v krvi kontrolní skupiny potkanů se statisticky významně zvyšovaly v prvních dnech experimentu. Na konci experimentu však došlo k poklesu na úroveň pokusných potkanů. Vysvětlení tohoto poklesu vyplývá z obsahu cholesterolu v krvi. V průběhu celého experimentu se hladina cholesterolu v krvi pokusných i kontrolních potkanů zvýšila až na hranici toxického účinku. U kontrolních potkanů na konci pokusu vzrostla hladina cholesterolu téměř na dvojnásobek hodnoty TG naměřené u pokusných potkanů. Toto zvýšení je zřejmě příčinou poklesu krvi kontrolních potkanů. Kontrolní pitva prokázala, že se u obou skupin potkanů projevil hepatotoxický účinek kombinace syntetické diety a koncentrace cholesterolu v dietě, který maskoval skutečný efekt pokusné diety. V současné době se upravuje dieta tak, aby byl eliminován hepatotoxický vliv cholesterolu.



ZÁVĚR

Experimenty ukázaly, že BG extrakt z bezpluchého ječmene je schopen vázat žlučové kyseliny. Pozitivní efekt baktocereálního přípravku na metabolismus cholesterolu u potkanů bude nutno potvrdit dalšími pokusy s upravenou dietou.

Literatura

Gorbach S.L., Goldin B.R., 1990: The intestinal microflora and the colon cancer connection, Rev Infect Dis, 12 Suppl 2: S252-61.

Kahlon, T.S., Chow F.I.,2000: In Vitro Binding of Bile Acids by Rice Bran, Oat Bran, Wheat Bran, and Corn Bran. Cereal Chem. 77 (4):518-521.

Kalra S., Jood S., 2000: Effect of Dietary Barley b-Glucan on Cholesterol and Lipoprotein Fractions in Rat. J of Cereal Sci, 31,141-145.

Macharáček O. 1996: Význam bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení. Medica revue, 11:28-30.

Stellwag E.J., Hylemon P.B., 1979: 7alpha-Dehydroxylation of cholic acid and chenodeoxy-cholic acid by Clostridium leptum: J Lipid Res 1979 Mar;20 (3):325-333.

HPLC A CITP STANOVENÍ KYSELINY GLUTAMOVÉ V POTRAVINÁCH

Dušek M., Krátká J., Kvasnička F.
Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Kyselina glutamová je velmi často používané aditivum v potravinářské technologii, její obsah je v potravinách hygienickými limity omezen na 10 000 mg.kg-1. Podle vyhlášky č. **274/2000** Sb. je pro glutamát sodný přidělen kód **E 621**, pro kyselinu glutamovou **E 620** a pro jiné soli kyseliny glutamové **E 622** až **E 625**.

Pro stanovení kyseliny glutamové/aminokyselin jsou používány metody vysokoúčinné kapalinové chromatografi na reverzní fázi s fluorescenční detekcí, pro kterou je nutná předkolonová derivatizace vzorku. Pro derivatizaci aminokyselin se nejčastěji používají čtyři derivatizační činidla: *o-phtaldialdehyd*[1,2,3] *(OPA)*, *9-fluorenylmethyl chloroformát*[4,5,6] *(FMOC)*, *dansyl chlorid*[7] *(DnsCl)* a *fluorescein isothiokyanát (FITC)* lišící se chemickou strukturou, rychlostí derivatizace a stabilitou získaných derivátů. Pro zvýšení účinnosti derivatizace je někdy výhodné používat kombinace dvou činidel *(OPA/FMOC)*.

Limitujícím faktorem HPLC stanovení glutamové kyseliny je FLD či UV detekce zvoleného derivátu. Jinou možností stanovení glutamové kyseliny je použití elektromigrační metody, v tomto případě *kapilární isotachoforézy*[8] *(CITP)* s vodivostní detekcí. Tato technika je výrazně méně časově náročná a nevyžaduje derivatizaci pro úpravu vzorku.

V práci byla studována možnost využití CITP ke stanovení glutamové kyseliny v instantních výrobcích a porovnání těchto výsledků s HPLC.

Experimentální část

Příprava vzorku – derivatizace

Obsah sáčku s ochucovadlem instantní polévky byl rozpuštěn v 200 ml horké destilované vody a následně po ochlazení doplněn do objemu 250 ml v odměrné baňce. Tento roztok byl zfiltrován přes modrý filtrační papír (FILTRAK 390) a takto připravené filtráty byly 500-krát naředěny pro CITP stanovení nebo 10 000-krát pro HPLC stanovení. Pokud nebyl extrakt vzorku analyzován v den přípravy, byl uchováván při –18 °C.

Derivatizace vzorku pro HPLC stanovení byla prováděna takto: 500µl vzorku bylo odpipetováno do 5 ml vialky, k tomuto objemu bylo přidáno 350 µl 0,1M borátového pufru a 150 µl 0,15 M derivatizačního činidla (0,16 g FMOC bylo rozpuštěno v přesně 25 ml acetonu). Obsah vialky dobře promíchán a ponechán přesně dvě minuty v klidu. Poté byly ke směsi přidány 2 ml n-hexanu, kterým bylo nezreagované derivatizační činidlo odstraněno. Ze spodní vodné vrstvy bylo odpipetováno 500 µl derivatizovaného vzorku do vialky a doplněno 500 µl borátového pufru výsledný objem vzorku ve vialce byl tedy 1 ml.

CITP

Pro CITP stanovení byl použit isotachoforetický analyzátor **ZKI 02** (Labeco) v jednokapilárovém uspořádání. Separace byly prováděny v FEP (flourovaný kopolymer ethylénu a propylénu) analytické kapiláře (160 mm×0.3 mm I.D.). Vzorky byly do systému dávkovány pomocí dávkovacího ventilu s fixním objemem 35 µl.

HPLC

Kapalinový chromatograf použitý pro stanovení glutamové kyseliny se skládal z autosampleru Gina 50 (Gynkotek), pumpy T586 (Gynkotek), fluorescenčního detektoru RF 2000 (Dionex) a kolonového termostatu LCO 101 (ECOM).

Výsledky a diskuse

CITP

CITP stanovení bylo prováděno s elektrolyty o složení LE: 10 mM HCl + 20 mM histidin + 0.1% HPMC[1] a TE: 5 mM MES[2]. Pětibodová kalibrační křivka byla pro kyselinu glutamovou (c=0,0069×L[3]+0,004; r=0,9999) změřena v intervalu 20–200 μmol.l^{-1}. Limit detekce *(LOD)* je 5 μmol.l^{-1} a limit kvantifikace *(LOQ)* je 10 μmol.l^{-1}. RSD[4] *(opakovatelnost)* mezi šestkrát opakovaným stanovením glutamové kyseliny byla 1,1 %. Hodnota aplikovaného hnacího proudu byla 80, respektive 40 μA. Doba trvání analýzy, při použití kombinace proudů o těchto hodnotách, byla 15 minut.

Na Obrázku **1A** je isotachoforegram vzorku č. 13. RSH[5] analytů je dostatečně rozdílné a separaci neruší žádná ze složek vzorku.

HPLC

HPLC separace byla prováděna na koloně *Purospher RP 18* (124×4 mm, 5 μm) při 30 °C. Jako mobilní fáze byla použita směs octanového pufru a methanolu a jejich poměr byl optimalizován na 55:45, průtok mobilní fáze byl 1 ml.min^{-1}. RSD *(opakovatelnost)* mezi šestkrát opakovaným stanovením glutamové kyseliny byla 15 %. Pětibodová kalibrační křivka byla pro kyselinu glutamovou (c=9.337×A+0.356, r=0.999) změřena v intervalu 1–5 μmol.l^{-1}. Limit detekce *(LOD)* je 0,05 μmol.l^{-1} a limit kvantifikace *(LOQ)* je 0.2 μmol.l^{-1}. Excitační vlnová délka pro fluorescenční detekci byla *265* nm a emisní vlnová délka *315* nm. Objem dávkovaného vzorku byl 10 μl a doba trvání jedné analýzy byla 35 minut. Chromatogram vzorku č. 13 je uveden na Obrázku **1B**.

Srovnání HPLC a CITP

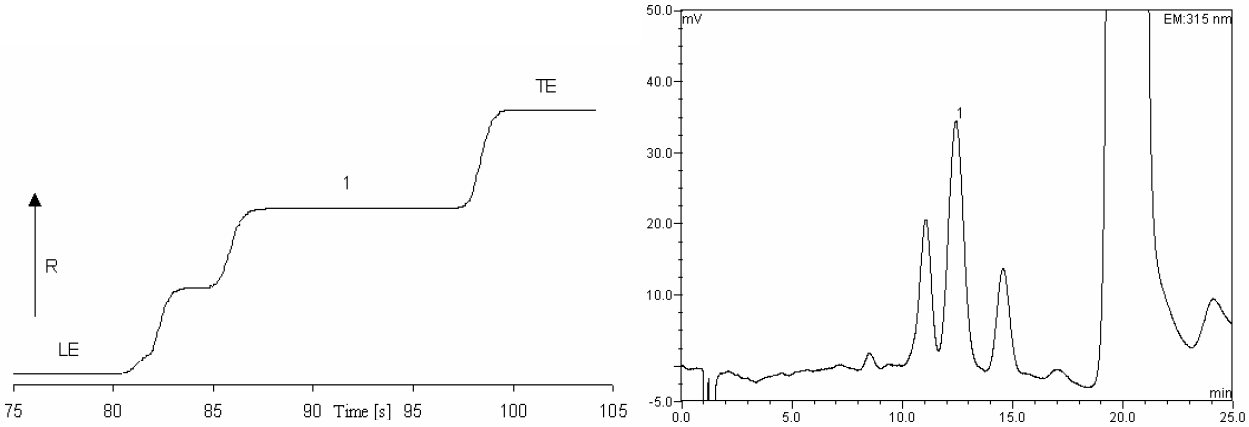
V *Tabulce 1* jsou uvedeny koncentrace (g.l^{-1}) glutamové kyseliny stanovené CZE a CITP metodou v 15 vzorcích instantních polévek. Kapilární isotachoforéza byla vzata jako referenční metoda. Graf lineární regrese (*Obrázek 2*) byl získán z dat *Tabulky 1.* vynesením koncentrací glutamové kyseliny naměřených metodou HPLC proti koncentracím naměřených referenční metodou - CITP. Porovnáním všech výsledků naměřených oběmi metodami byla získána rovnice regresní přímky ve tvaru HPLC=(0,7682±0,008)×CITP + (0,1652±0,002); r=0,935. Z hodnoty směrnice a úseku na ose y je patrné, že HPLC metoda poskytuje systematicky nižší hodnoty glutamové kyseliny, *tzn.* interval spolehlivosti těchto koeficientů v sobě nezahrnuje *1*, respektive *0*. Hodnota korelačního koeficientu kalibrační křivky r=0,935 (r_{TAB}=0,930) indikuje nízkou pravděpodobnost náhodných chyb obou metod.

Jak bylo uvedeno výše, rozdíly obou metod spočívají v nižších nálezech glutamové kyseliny metodou HPLC. Jako nejpravděpodobnější příčina nižších nálezů glutamové kyseliny je zřejmě samotná příprava vzorku k analýze, která vyžaduje více kroků než je tomu u CITP. Velký rozdíl je v ředění vzorků, pro CITP byly vzorky ředěny maximálně 500-krát, pro HPLC byly všechny vzorky ředěny 10 000-krát a při takto velkém ředění se dosahuje chyby až ± 10 %. Nejvyšší rozdíly mezi oběmi metodami byly nalezeny u vzorků s vysokým obsahem kyseliny glutamové, proto lze předpokládat, že u těchto vzorků pravděpodobně nejsou dvě minuty dostatečné pro 100% derivatizaci vzorku.

---

[1] hydroxypropylmethylcellulose
[2] 2-[N-morpholino]ethanesulfonic acid
[3] délka zóny
[4] relativní směrodatná odchylka
[5] relativní výška kroku

(A) (B)

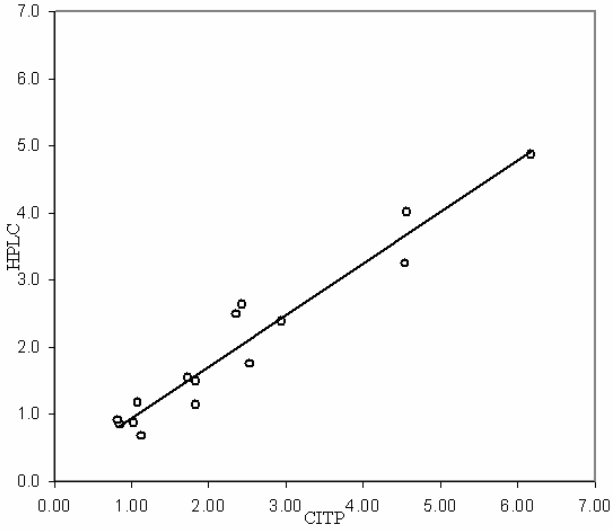


Obrázek 1. Vzorek instantní polévky č. 13 stanovený (A) *CITP*, 500-krát zředěný; (B) *HPLC*, 10 000-krát zředěný, po 18 minutě analýzy se eluuje zbytek nezreagovaného derivatizačního činidla. 1- kyselina glutamová

Tabulka 1. Výsledky stanovení kyseliny glutamové metodami HPLC a CITP

Vzorek	**HPLC** [g.l^{-1}]	**CITP** [g.l^{-1}]
1	2,5 ± 0,5	2,35 ± 0,03
2	3,3 ± 0,6	4,55 ± 0,05
3	2,4 ± 0,5	2,94 ± 0,03
4	1,8 ± 0,3	2,54 ± 0,03
5	0,9 ± 0,2	0,86 ± 0,01
6	0,9 ± 0,2	0,82 ± 0,01
7	1,2 ± 0,2	1,08 ± 0,01
8	0,9 ± 0,2	1,03 ± 0,01
9	4,0 ± 0,8	4,56 ± 0,05
10	1,5 ± 0,3	1,84 ± 0,02
11	4,9 ± 1,0	6,18 ± 0,07
12	2,6 ± 0,5	2,43 ± 0,03
13	1,2 ± 0,2	1,84 ± 0,02
14	1,6 ± 0,3	1,73 ± 0,02
15	0,7 ± 0,1	1,13 ± 0,01

Obrázek 2. Srovnání hodnot naměřených metodami HPLC a CITP



Závěr

Kyselina glutamová byla stanovena v patnácti instantních polévkách a v žádné z nich nebyl překročen limit 10 000 $mg.kg^{-1}$ daný zákonem č. 110/1997 Sb..

Limitujícím faktorem HPLC metody, jež má oproti CITP (v tomto uspořádání) 100-krát nižší detekční limit, je vlastní derivatizace vzorku. CITP technika nabízí elegantní řešení stanovení volné glutamové kyseliny v potravinách s dostatečným detekčním limitem a bez nutnosti derivatizace vzorku. Pro důkladné srovnání je tedy třeba optimalizovat postup derivatizace tak, aby se hodnota opakovatelnosti HPLC stanovení více přiblížila hodnotě opakovatelnosti CITP stanovení.

Literatura

[1] Betancort Rodríguez, J. R., García Reina, G., Santana Rodríguez, J. J.: Determination of Free Amino Acids In Microalgae by High-performance Liquid Chromatography Using Pre-column Fluorescence Derivatization, *Biomedical Chromatography*, **11**, 1997, 335-336.
[2] Beljaars, P. R., Van Dijk, R., Bisschop, E., Spiegelenberg, W. M.: Liquid Chromatographic Determination of Free Glutamic Acid is Soup, Meat Products, and Chinese Food: Interlaboratory Study, *Journal of AOAC International*, **79** (3), 1996, 697-702.
[3] Tcherkas, Y. V., Denisenko, A. D.: Simultaneous determination of several amino acids, including homocysteine, cysteine and glutamic acid, in human plasma by isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, **913**, 2001, 309-313.
[4] Herbert, P., Barros, P., Ratola, N., Alves, A.: HPLC Determination of Amino Acids in Muts and Port Wine Using OPA/FMOC Derivatives. *Food Chemistry and Toxicology*, **65** (7), 2000, 1130-1133.
[5] Strein, T. G., Poeschmann, J. L., Prudenti, M.: Micellar Electrocinetic Capillary Chromatography in the Undergraduate Curriculum: Separation and Identification of the Amino Acid Residues in an Unknown Dipeptide Using FMOC. *Journal of Chemical Education*, **76** (6), 1999, 820-825.
[6] Jamie, E., Hummert, C., Luckas, B.: Eine optimalierte HPLC-Methode zur Analyse von PSP-Toxine in Lebensmitteln mariner Herkunft. *Lebensmittelchemie*, 53, 1999, 127-128.
[7] Zkušební metoda *Analab Praha s.r.o.*, č. 185.
[8] Kenndler, E., Huber, J. F. K.: Simultane Identifizierung und Quantifizierung der Geschmacksverstärker Glutamat, Guanosin-5-monophosphat in Lebensmitteln mit Isotachophorese. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung*. 171, 1980, 292-296.

FRAKCIONACE BÍLKOVIN SYROVÁTKY

Tovarová I., Čurda L., Parkányiová J., Moravcová J.
1-Ústav technologie mléka a tuků, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
2-Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Syrovátka vzniká jako vedlejší produkt při výrobě sýrů a kaseinu. Díky rostoucí poptávce po sýrech se produkce syrovátky zvyšuje každoročně asi o 3 %. V roce 1997 dosáhla její celosvětová produkce 118 milionů tun (de Wit 1998). Vedle laktosy a minerálních látek obsahuje syrovátkové bílkoviny. Tyto proteiny mají ve srovnání s proteiny z jiných zdrojů nejvyšší výživovou hodnotu. Zpracování syrovátky je však díky nízkému obsahu sušiny náročné. V současné době se syrovátka využívá pro krmné účely, pro výrobu laktosy a izolátů či koncentrátů jednotlivých bílkovin nebo směsí těchto bílkovin (Maubois a Oliver 1997).

Syrovátkové bílkoviny jsou mléčné proteiny, které při pH 4,6 a teplotě 20 ºC zůstávají rozpuštěny. V kravském mléce tvoří 20 % veškerých bílkovin. Přehled syrovátkových bílkovin, jejich molekulovou hmotnost a obsah v syrovátce ukazuje tab.I.

Tab.I: Přehled syrovátkových bílkovin (de Wit 1998).

Bílkovina	Relativní zastoupení [%]	Koncentrace v syrovátce [g/l]	Molekulová hmotnost [10^3 g/mol]
β-Laktalbumin	50 – 65	2 – 4	18,3 – 18,4
α-Laktoglobulin	12 – 25	0,6 – 1,7	14,2
Hovězí albumin	5 – 6	0,2 – 0,6	66
Imunoglobuliny	10 – 15	0,5 – 0,9	150 – 1000
Proteosopeptony	5 – 23	0,2 – 1,4	≥3,5
Laktoferin	≤1	0,02 – 0,2	78
Laktoperoxidasa	≤1	0,02 - 0,06	78
Kaseinmakropeptid	10 - 25	1,2 –1,5	7

Tato práce se zabývá možnostmi izolace α-laktalbuminu (α-La), laktoferinu (Lf), laktoperoxidasy (Lp) a kaseinomakropeptidu (CMP).

α-La je metaloprotein se čtyřmi disulfidickými můstky, k zachování nativní konformace vyžaduje vazbu vápníku. V mléce je kofaktorem při biosyntéze laktózy. Díky vysokému obsahu tryptofanu se uplatňuje ve funkčních potravinách a kojenecké a dětské výživě (Gerberding a kol.1998).

Lp je nejvíce zastoupený enzym mléka. Tento glykoprotein spoluvytváří laktoperoxidasový systém. Za přítomnosti peroxidu vodíku katalyzuje oxidaci thiokyanatanových, jodidových či bromidových iontů. Vzniklé produkty působí antimikrobiálně. Z tohoto důvodu se Lp využívá v léčebné kosmetice a do ústních vod (Kussendrager a Hooijdonk 2000).

Glykoprotein Lf obsahuje dvě vazebná místa pro železité ionty, v nativním stavu je však saturace jen částečná (8 – 30 %). Díky chelatačním vlastnostem a schopnosti rozrušovat buněčnou stěnu

gramnegativních bakterií působí Lf antimikrobiálně. Používá se v komerčních preparátech zajištujících optimální přísun železa, v dětské výživě a v kosmetice (Shah 2002).

CMP vzniká při sladkém srážení mléka štěpením κ -kaseinu. κ-Kasein, který je přítomný v mléce spolu s dalšími kaseiny, je primárním substrátem chymosinu – proteasy srážející mléčný kaseinový komplex. Dochází ke štěpení peptidové vazby Phe 105 – Met 106. Vzniká N-koncový fragment (para κ-kasein, zbytky aminokyselin 1 – 105) a C-kncový fragment (CMP, zbytky aminokyselin 106 – 169). Para κ-kasein zůstává s koagulovanými kaseiny a přechází jako sraženina do sýřeniny. CMP je ve vodě rozpustný a je zadržen v syrovátce, ve které je jeho koncentrace přibližně 1 g/l . CMP má dvě genetické varianty A a B. Varianta A se liší náhradou threoninového zbytku za alanin v poloze 136 a zbytku asparagové kyseliny za izoleucin v poloze 148. Threonin v poloze 131, 133, 135, 136, 142 a serin v poloze 141 mohou vázat oligosacharidy. Díky pěti glykosylačním polohám se váže jeden či více zbytků kyseliny N-acetylneuramové, galaktosa, N-acetylgalaktosamin (McIntosh 1998). CMP může být do různého stupně fosforylován. Jeho molekulová hmotnost silně závisí na pH, při pH 4,6 je 7000 g/mol. CMP má významné vlastnosti z hlediska zdravotního i technologického. Stimuluje imunitní systém a potlačuje produkci žaludečních šťáv. Byla u něj prokázána vazba enterotoxinů cholery a *Escherichia coli* a inhibice vazby bakterií a virů na střevní stěnu (McIntosh 1998).

K frakcionaci syrovátky lze využít iontově výměnnou chromatografii, afinitní chromatografii, selektivní srážení nebo membránovou filtraci (Zydney 1998).

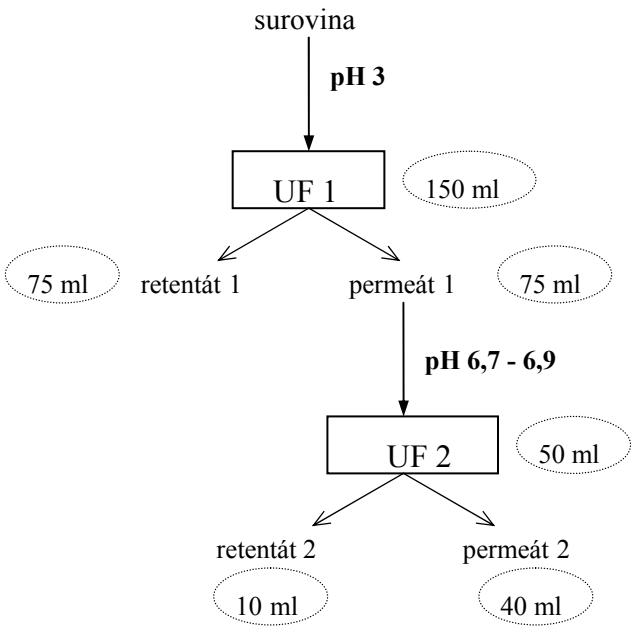
Selektivní srážení se využívá při izolaci α-La. Jedna z možností jeho získání je úprava pH syrovátky na 6,0 a záhřev na 85 ºC po dobu 5 minut, při kterém se vysráží β-laktoglobulin. α-La se oddělí na membráně o NMWL 50 000 – 150 000. Při izolaci CMP se vychází z koncentrátu syrovátkových bílkovin zahřátého na 85 ºC, po úpravě pH do isoelektrického bodu následuje odstředění či filtrace. Tepelně stabilní CMP přechází do supernatantu či filtrátu (Zydney 1998).

Iontově výměnná chromatogrfie se v průmyslovém měřítku využívá pro izolaci Lf a Lp. Dělení se provádí na katexu, na kterém se tyto bílkoviny selektivně zadržují (Bylund 1995). Iontově výměnnou chromatografií lze také izolovat CMP. Při nižší hodnotě pH, kdy už je většina syrovátkových bílkovin nabita kladně, má CMP vysoký záporný náboj. Prochází-li anexem syrovátka o pH 4, adsorbuje se pouze CMP a naopak při použití katexu a okyselení syrovátky jediný CMP není zachycen (Nakano a Ozimek 2000).

Z membránových procesů se pro separaci syrovátkových bílkovin využívá ultrafiltrace. Ultafiltrací je možno izolovat CMP. Tato metoda využívá závislosti molekulové hmotnosti CMP na pH. Jako výchozí surovina může být využita sladká syrovátka, koncentrát syrovátkových bílkovin či enzymově hydrolyzovaný roztok kaseinátu sodného. Výchozímu roztoku se sníží pH na hodnotu, při které má CMP velikost molekuly menší než jsou póry dané membrány. CMP přechází do permeátu. Po zvýšení pH následuje zahuštění permeátu, které se provádí na téže ultrafiltrační membráně či na membráně s menšími póry (Chu a kol. 1996).

Pro izolaci CMP se jeví jako nejvíce perspektivní právě membránová filtrace s různými kombinacemi ultrafiltračních membrán. Důvodem je literaturou uváděné dosažení nejlepších výsledků a relativně nízká ekonomická náročnost tohoto postupu z hlediska průmyslové výroby. Ultrafiltračními jednotkami jsou již dnes vybaveny některé mlékárenské podniky (Zydney 1998).

Byl proveden postup dvou následných ultrafiltrací na téže membráně při různém pH (obr.1). Tento postup byl realizován se dvěmi odlišnými surovinami a dvěmi různými membránami tab.2. Retentáty a permeáty získané všemi ultrafiltracemi byly analyzovány SDS-PAGE a obsah dusíku v nich stanoven dle Kjeldahla. Relativní obsah CMP (% bílkovin syrovátky) v surovině a v produktech ukazuje tab.3



Obr. 1:Postup dvou následných ultrafiltrací

Tab. II: Ultrafiltrační postupy

Surovina	NMWL membrány	Označení postupu
Obnovená sušená syrovátka (100g/l)	10 000	A
Obnovená sušená syrovátka (100g/l)	30 000	B
Filtrát po tepel. srážení obnovené syrovátky o konc. 100 g/l	30 000	C

Tab.III: Relativní zastoupení CMP v surovině a produktech ultrafiltračních postupů

Ultrafiltrační postup	Analyzovaný vzorek	Relativní zastoupení CMP [% celkových bílkovin]
	Obnovená sušená syrovátka (100g/l)	16,1
A	permeát 2	neprokázána přítomnost bílkovin
	retentát 2	neprokázána přítomnost bílkovin
B	permeát 2	-
	retentát 2	59,0
C	permeát 2	32,3
	retentát 2	29,2

Při první ultrafiltraci přes membránu o NMMW 10 000 se v retentátu zadržely všechny bílkoviny, následná ultrafiltrace proto již z hlediska izolace CMP nemá smysl. Při první ultrafiltraci syrovátky přes membránu o NMMW 30 000 se podstatná část bílkovin zadrží v retentátu 1. V druhém ultrafiltračním kroku CMP částečně prochází do permeátu a částečně je zadržen. Tímto postupem je možné získat směs CMP a β-laktoglobulinu (retentát 2) a směs CMP a α-La (permeát 2). V případě, kdy přes tutéž membránu byl ultrafiltrován filtrát po tepelném srážení syrovátky, choval se systém odlišně. Do permeátu 1 prošla i proteoso peptonová frakce a při druhé ultrafiltraci nebyl veškerý β-laktoglobulin zadržen na membráně, ale částečně přecházel do permeátu 2. Z těchto poznatků je patrné, že relativní obsah CMP v ultrafiltračním produktu je výrazně ovlivněn záhřevem suroviny.

Výše uvedené experimenty vycházely z obnovené sušené syrovátky, její vlastnosti mohou být sušením do značné míry pozměněny. Další změny může přinést použití ultrafiltračního zařízení s tangenciálním tokem nad membránou.

Literatura

Bylund G.: Dairy Processing Handbook, str. 335-339. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund 1995.
de Wit J. N. (1998): Nutritional and Functional Characteristics of Whey Proteins in Food Products. J. Dairy Sci., 81: 597 - 608.
Gerberding S. J., Byers C. H. (1998): Preparative ion-exchange chromatography of proteins from dairy whey. J. Chromatogr. A, 808: 141 - 151.
Chu L., MacLeod A., Ozimek L. (1996): Isolation of glycomacropeptide from sodium caseinate hydrolysate solution by ultrafiltration. Milchwissenschaft, 51: 303 - 306.
Kussendrager K. D., van Hooijdonk A. C. M. (2000): Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. Brit. J. Nutr., 84 (Suppl. 1): 19 - 25.
Maubois J. L., Ollivier G. v knize: Food Proteins and Their Applications (Damodaran S., Paraf A., Eds.), str. 579 - 595. Marcel Dekker, Inc., New York 1997.
McIntosh G. H., Royle P. J., Le Leu R. K., Regester G. O., Johnson M. A., Grinsted R. L., Kenward R. S., Smithers G. W. (1998): Whey Proteins as Functional Food Ingredients? Int. Dairy J., 8: 425 - 434.
Nakano T., Ozimek L. (2000): Purification of glycomacropeptide from dialyzed and non-dialyzed sweet whey by anion-exchange chromatography at different pH values. Biotechnol. Lett., 22: 1081 - 1086.
Shah N. P. (2000): Effects of milk-derived bioactives: an overview. Br. J. Nutr., 84 (Suppl.1): 3 - 10.
Zydney A. L. (1998): Protein Separations Using Membrane Filtration: New Opportunities for Whey Fractionation. Int. Dairy Journal, 8: 243 - 250.

ZÁKALY, SRAŽENINY A MECHANICKÉ NEČISTOTY V NÁPOJÍCH, METODY DETEKCE, PŘÍKLADY

Krátká J.[1], Voldřich M. [1], Kvasnička F. [1],Čížková H. [1], Ševčík R. [1], Maryška M.[2], Dušek M. [1]
1 - Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6
2 - Ústav skla a keramiky, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6

Úvod:

Tvorba zákalů a sraženin v čirých nápojích představuje významný technologický problém provázející celý postup výroby od jejího začátku až po distribuci výrobku spotřebiteli. Příčiny zákalů a sraženin se liší podle charakteru nápoje. Vždy jsou však tyto vady provázeny optickými a mnohdy i chuťovými změnami finálního produktu.
K zajištění prevence výskytu vad jakosti, popř. odstranění již vzniklých zákalů, je nezbytné správně identifikovat původ těchto změn, jejichž příčinou mohou být suroviny, nedodržení technologických postupů, použitý obal, nebo nevhodné podmínky přepravy, skladování a distribuce výrobků.
Všeobecně lze příčiny zákalů rozdělit do několika kategorií. Jednoznačné rozdělení bývá však obtížné, protože zákaly mohou mít více příčin, a obvykle se na jejich vzniku podílí více různých látek.

Zákaly lze podle příčiny jejich vzniku rozdělit na anorganické, organické a mikrobiálně podmíněné:

Anorganické zákaly:
železo (černý nebo bílý zákal) – především ze zařízení, nutná ochrana zařízení potažením úponem, zavádění potrubí z potravinářské nerez oceli, měď (zákal s bílkovinami nebo leukoanthokyany), cín (zákal s bílkovinami), hliník (zákal s bílkovinami), křemelina

Organické zákaly:
vinný kámen, vápenaté soli kyseliny vinné, slizové nebo šťavelové, bílkovinné zákaly, komplexy proteinů s polyfenoly a ionty kovů, polysacharidy, tříslovinové zákaly a jejich zákaly s pektiny, saponiny, korek, dřevo

Biologické zákaly:
kvasinky, bakterie , plísně

Při posuzování podstaty a původu sraženiny nebo zákalu je nezbytné shromáždit maximum informací o surovinách, technologickém postupu, konkrétních podmínkách, za kterých byl defektní produkt vyroben. Na základě těchto informací jsou zúženy možné příčiny a je zvolen optimální postup analýzy.
Samotné určení druhu zákalu začíná senzorickým posouzením. Při tomto hodnocení jsou sledovány takové změny, jakými jsou změna vzhledu, barvy, chutě, vznik plynů a přípachů atd. Takto lze s vysokou pravděpodobností odhalit mikrobiální kontaminaci, kterou lze následně potvrdit jak mikrobiologickým rozborem, tak mikroskopickou analýzou.
Kvantifikace podílu sraženiny nebo kalu se provádí metodami, jako jsou např. usazení a odečtení objemu kalu, odstředění v kalibrovaných dělených kyvetách s následným odečtením objemu. Dále lze rovněž využít izolace sraženiny filtrováním a kvantifikace vážením. Pro další analýzy je vhodné využít např. izolace pomocí odpipetování nebo pomocí usazování v usazovacích či dělicích nálevkách.
Dalším krokem, který obvykle předchází chemické analýze sraženiny a kalových částic je mikroskopická analýza. Mikroskopická analýza může podle charakteru defektu, nebo podle možností zařízení posloužit k přímé identifikaci sraženiny, obvykle usnadní volbu dalšího postupu. V příkladech v příloze je přímá mikroskopická detekce sraženiny popsána u zákalů ve víně, v jednom případě se jednalo o zbytky křemeliny z filtračních desek, ve druhém o kontaminaci z přířezů krabic. Mikroskopicky lze také obvykle detekovat sraženiny a zákaly tvořené těly mikroorganismů. Velká skupina zákalů a sraženin vzniká spontánně v nápoji reakcí nebo vysrážením různých složek. Mikroskopie v tomto případě umožní pouze určit, zdali se jedná o krystalickou strukturu, nebo o amorfní částici. V těchto případech jsou prováděny testy vstupní suroviny, cílené k potvrzení nebo vyloučení jednotlivých potenciálních příčin. Příkladem mohou být zákaly přisuzované složkám cukru (zejména saponinům), které vznikají v čirých kyselých nápojích sycených oxidem uhličitým.

Chemická analýza sraženiny je možná obvykle po izolaci z nápoje. V klasické technologii ovocných šťáv se používají důkazy:

škrobů: jodová zkouška, reakcí s jódem vzniká modré zabarvení
bílkovin: teplotní test, reakce s 0,5% ninhydrinem, kvantifikace stanovením dusíku podle Kjeldahla
fenolů: reakce s 1%ním vanilinem v HCl (červené zbarvení), srážení solemi kovů (octan Pb^{2+}, Zn^{2+}, objemná žlutavá sraženina)

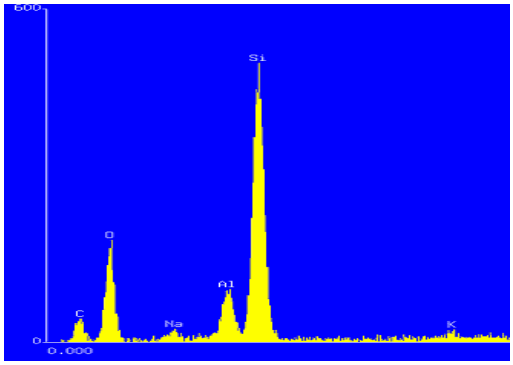
Metody analýzy obvykle zahrnují separační techniky a identifikace jednotlivých složek (HPLC, CE, CITP, GLC a další), spektrální metody mohou být také využity,. ale selhávají v případě komplikovaných směsí, které tvoří zákal nebo sraženinu.

Příklady defektů, metody identifikace

Příklad 1
Identifikace sedimentu ve víně
Vzorek: víno, baleno ve skleněné lahvi, jemná sraženina
Metoda analýzy, výsledky:
Mikroskopická analýza:

Obr. 1: Sediment ve víně tvořený převážně částicemi křemeliny, elektronový mikroskop

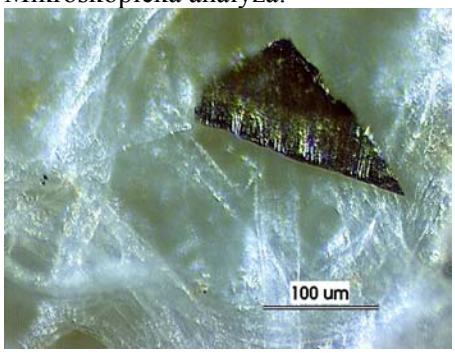
Compound Formula	Compound Wt %	No. of Cations
C	37.63	38.465
Na2O	2.34	0.929
Al2O3	8.26	1.989
SiO2	48.85	9.980
K2O	0.79	0.206
Fe2O3	2.03	0.312
CaO	0.10	0.022
---	---	---
	100.00	51.901



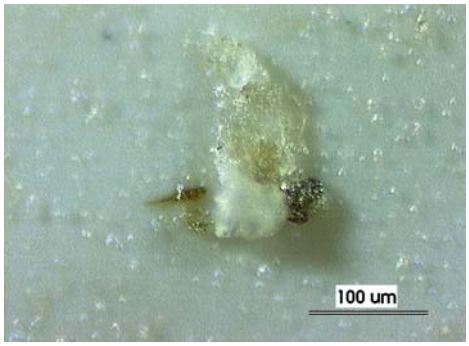
Obr. 2: Výsledky spektrální analýzy sedimentu z vína

Sraženina detegována pomocí elektronového mikroskopu a metodou spektrální analýzy (viz obr. 1 a 2). Za původcem zákalu označeny částečky křemeliny uvolňující se z filtračního média. Výrobci doporučena výměna filtračních desek.

Příklad 2
Identifikace mechanických nečistot ve víně
Vzorek: víno, baleno v kartonu systémem combibloc
Metoda analýzy, výsledky:
Mikroskopická analýza:



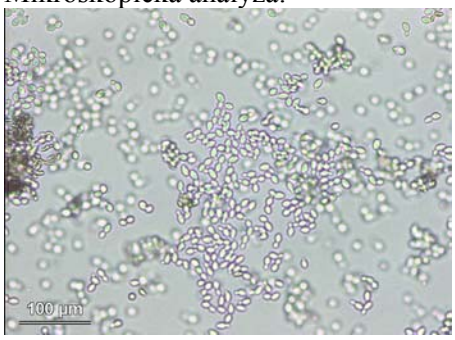
Obr. 3: sraženina ve víně, hliníková štěpina, optický mikroskop, viditelné světlo



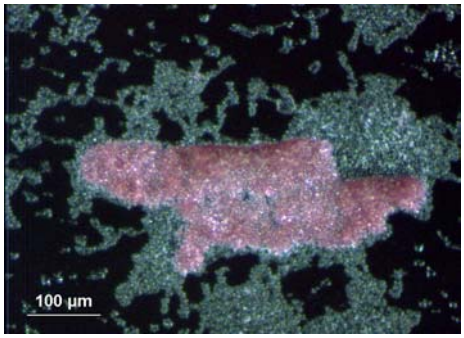
Obr. 4: sraženina ve víně, hliníková štěpina a kousek plastového obalu, optický mikroskop, viditelné světlo

Analýza provedena pomocí optického mikroskopu ve viditelném světle.
Na základě mikroskopické analýzy bylo zjištěno, že mechanické nečistoty jsou mikroskopické štěpiny z obalového materiálu. Nejspíše při přisunování přířezů kartónových obalů nebo při uzavírání po naplnění v plnicí lince PKL docházelo v důsledku nesprávného nastavení zařízení k oděru skládačky.

Příklad 3
Identifikace sraženiny ve víně
Vzorek: víno, baleno ve skleněné lahvi, plovoucí hrubá sraženina velikosti desetin centimetrů
Metoda analýzy, výsledky:
Mikroskopická analýza:



Obr. 5: shluky kvasinek, izolováno ve víně, optický mikroskop, viditelné světlo



Obr. 6: načervenalá anizotropní látka s nánosem kvasinek, izolováno ve víně, optický mikroskop, polarizované světlo

Sraženina izolovaná z vína byla detegována optickým mikroskopem v polarizovaném světle. Mikroskopickou analýzou byla prokázána přítomnost kvasinek a červené anizotropní látky. Pravděpodobně se jedná o usazeninu ze dna sudu nebo zbytky dřeva vynesené kvasinkami na povrch.

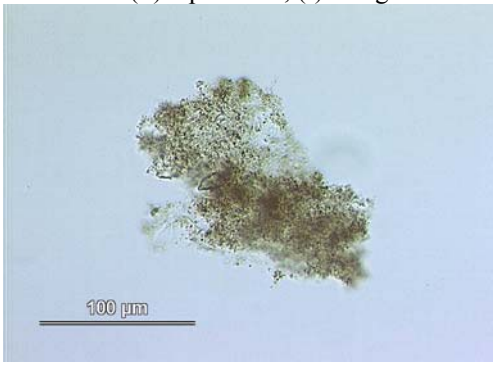
Příklad 4
Identifikace sraženiny v kyselém syceném nealkoholickém nápoji
Vzorek: ochucená minerální voda, baleno ve skleněné i PET lahvi, jemná sraženina, vločky a vlákna velikosti desetin milimetrů až milimetrů
Metoda analýzy, výsledky
Smyslové posouzení – vločky až vlákna ve vznosu (viz výše)
Mikroskopická analýza – amorfní sraženina (obr. 7)
Mikroskopická analýza nejednoznačná, sraženina složena z blíže neurčené látky

Great-Western-test (úprava): test na nepřímý důkaz chování cukru použitého k výrobě slazeného nápoje
test prováděn na vzorcích sirupů, nutná úprava množství přídatných látek. Pomocí naměřené refrakce byla přepočítána navážka sirupu. Dané množství naváženého sirupu bylo doplněno destilovanou vodou do 100 g a po dobu 1 hodiny zahříváno pod hodinovým sklíčkem při teplotě 80 až 90°C.

Tab. I: Vyhodnocení provedených testů u sirupů

Test / sirupy vyrobené dne:	1 4.11.	2 6.11.	2 8.11.	1 7.11.	1 3.11.	1 8.12.	9.12.
Great-Western-test	+	-	-	-	-	-	

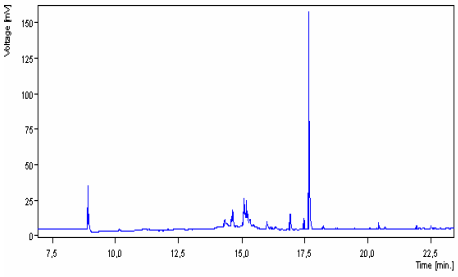
Poznámka: (+) – pozitivní, (-) – negativní



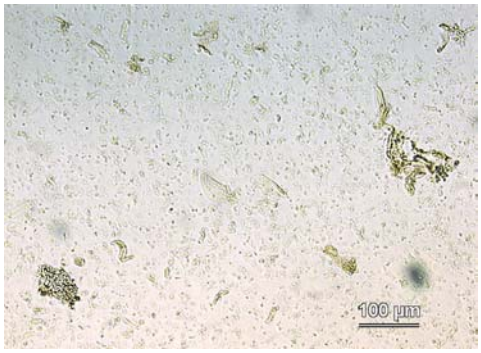
Obr. 7: sraženina izolovaná z ochucené minerální vody, optický mikroskop, viditelné světlo

Obdobné typy sraženin jsou charakteristické pro složky cukrů, zejména saponiny. Jedná se o různorodou skupinu heteroglykosidů vyskytujících se převážně v rostlinách a to především v kořenech, kůře a rychle rostoucích částech. Při výrobě nealkoholických nápojů, zejména sycených čirých nápojů bez podílu ovoce, vytvářejí tyto látky s ostatními složkami (kladně nabitými peptidy a proteiny) nápoje sraženinu ve tvaru vloček nebo větších shluků. Pro tvorbu těchto anomálií postačují velmi nízké koncentrace reagujících látek, které mohou pocházet z cukru nebo jiných složek sirupu. Prakticky proto nelze vyvločkování zabránit a jako takové se občas vyskytuje i u renomovaných firem.
Hypotéza původu sraženiny z cukrů resp. cukerného sirupu byla ověřována testováním sirupů, ze kterých byly vyrobeny defektní nápoje.

Příklad 5
Identifikace sraženiny v jablečném koncentrátu
Vzorek: jablečný koncentrát, dodáno z výrobny v PET lahvi, po zředění na 18° Brix a po stání po dobu 2h tvorba jemné hnědé sraženiny
Metoda analýzy, výsledky:
Mikroskopická analýza: viz obr. 9
CITP-CZE (izotachoforetická-elektroforetická analýza): profil sraženiny z hlediska látek absorbujících v λ=350nm



Obr. 8: CITP-CZE záznam sraženiny, izolováno z zředěného jablečného koncentrátu



Obr. 9: Polyfenolická sraženina v jablečném koncentrátu, optický mikroskop

Lehmann, H.:Čiření ovocných šťáv, SNTL, Praha 1990.
Hrudková, A., Markvart, J., a kolektiv.: Nealkoholické nápoje. SNTL, Praha 1989, ISBN: 04-808-89.
T. Beveridge, J. E. Harrison, L. Veto, E. N. Pallares: Detection of filter media derived haze in apple juice concentrate, Food Research International Vol. 29, 577-583, 1996
Z. Borneman, V. Gökmen, H. Nijhuis: Selective removal of polyphenols and brown colour in apple juices using PES/PVP membranes in a single utrafiltration process, Separation and Purification Technology, vol. 22-23 (2001), 53-61

VLIV OŠETŘENÍ VELMI VYSOKÝM TLAKEM NA MECHANICKÉ VLASTNOSTI ZELENINY

Strohalm J., Landfeld A., Novotná P., Kýhos K., Houška M.
Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10

Poděkování: Tato práce byla vypracována s podporou grantu *MZe-ČR EP 9026 a úkolu MPO č. smlouvy FB-C2/01/99*

Kusovité ovoce a zelenina mění po ošetření velmi vysokým tlakem svoje vlastnosti. Dochází ke změnám chuti i vzhledu, obdobným jako při blanžírování.

Tato část práce se zabývala změnami mechanických vlastností u vybraných druhů zeleniny. Byly vyhodnocovány změny pevnosti jednotlivých vzorků vlivem ošetření vysokým tlakem (velikost tlku a délka doby působení), s minimálním pobytem vzorku ve vodě (jen po dobu vlastního ošetření v tlakové komoře) a bez vlivu skladování.

Pro měření změn pevnosti po ošetření vysokým tlakem byly zvoleny brambory, ředkev bílá, mrkev, celer bulvový, červená řepa.

Zhotovení vzorků *:*

Plody byly děleny příčným řezem, z nich byly pomocí speciálních přípravků zhotovovány válečky o průměru a výšce 15 mm. Vzorky určené pro měření byly vloženy do PET lahve o objemu 0,25 l, zality vodou a ošetřeny vysokým tlakem. Hodnoty ošetřovacích tlaků 100, 200, 300, 400 a 500 MPa, doba ošetření 3, 5, 7 a 10 minut, při teplotě vzorků 19 - 22 °C.

Metodika měření pevnosti

Vlastní měření probíhalo na texturometru TA-XT2i naprogramovaném a seřízeném na následující parametry : rychlost posuvu 0,5 mm/s, měřicí hlava 25 kg, maximální relativní deformace 20 %, teplota vzorku 22 °C. Válcové vzorky byly stlačovány mezi dvěma deskami. Za pevnost vzorku byla považována síla při dosažení 20 % relativní deformace.

Vzorky byly postupně vkládány mezi měřicí desky. V každé sérii (určené jedním tlakem a jednou dobou ošetření) bylo měřeno 5 vzorků, přitom každý vzorek byl měřen pouze jednou. Výsledky byly zaznamenány do grafů, zapisovány do tabulek, vypočteny aritmetické průměry a směrodatné odchylky. Výsledky byly dále vyhodnocovány i statistickými metodami (podrobně Výzkumná zpráva VÚP Praha č.9/360/2001). U tlakem neošetřených vzorků byly stanoveny počáteční hodnoty pevnosti, které byly porovnávány se vzorky sérií ošetřených tlakem.

Výsledky a diskuse

<u>Brambory (odrůda Radka) - ukázka obr. 1</u>

Brambory se obecně vyznačují celkem rovnoměrnou strukturou.

U tlakem neošetřených vzorků byly naměřeny počáteční hodnoty pevnosti, které byly porovnávány se vzorky sérií ošetřených tlakem. Tlakem 100 MPa nedošlo u pevnosti ke snížení, ale spíše k malému zvýšení. Vlivem působení vysokého tlaku od 200 MPa výše došlo již ke snížení pevnosti oproti neošetřenému vzorku. Vzorky ošetřené tlakem 300, 400 a 500 MPa měly podobnou pevnost a to nižší, než po ošetření tlakem 200 MPa .

Ředkev bílá (odrůda Bílý rampouch)- ukázka obr. 2

Bílá ředkev se vyznačuje křehkou, šťavnatou a nehnědnoucí dužninou, obsahující zejména po obvodu dřeňové shluky propojené tvrdými vlákny. Vlivem působení vysokého tlaku došlo nejdříve působením tlaku 100 MPa po dobu 3 a 5 min k malému nárůstu pevnosti a teprve od doby 7 a 10 minut se začal projevovat pokles pevnosti. Vzorky ošetřené tlakem 200 MPa měly velký pokles pevnosti na hodnotu, která se pak u vzorků ošetřených tlakem 300 – 500 MPa v podstatě nezměnila.

Mrkev (odrůda karotka) - ukázka obr. 3

Mrkev se vyznačuje tvrdou, křehkou, šťavnatou strukturou, výrazně rozdělenou na část středovou (měkčí) s kuželovitými výrůstky prorůstajícími do vnější (tvrdší) vrstvy. Tlakem 100 MPa došlo k velmi malému snížení pevnosti a to rostoucímu s dobou ošetření. Vlivem působení vysokého tlaku 200 MPa došlo k podstatně vyššímu poklesu pevnosti oproti neošetřenému. A podobně jako u vzorků bílé ředkve byl pokles pevnosti pro tlaky v rozsahu 300÷500 MPa i s ohledem na dobu ošetření stejný.

Celer bulvový (odrůda Olomoucký) – ukázka obr. 4

Celer se vyznačuje pevnou strukturou, celkem rovnoměrnou, zejména při odběru vzorků pouze z obvodu. I při tomto výběru se vyskytovala dřevnatá vlákna, která částečně zpevňují strukturu. Ve sklovité struktuře, vzniklé působením tlaku se vlákna zviditelnila (žlutá až bílá) a tužší části zhnědly (shluky-skvrny).

Tlakem 100 MPa došlo k nepodstatnému snížení pevnosti při době ošetření 3, 5 a 7 minut, ale po 10 minutách byl již zaznamenán pokles. Vlivem působení vysokého tlaku 200 a 300 MPa došlo již k výraznějšímu poklesu pevnosti oproti neošetřenému vzorku. Tlakem 400 a 500 MPa došlo k dalšímu poklesu pevnosti, který byl v porovnání s ostatními vzorky zeleniny největší.

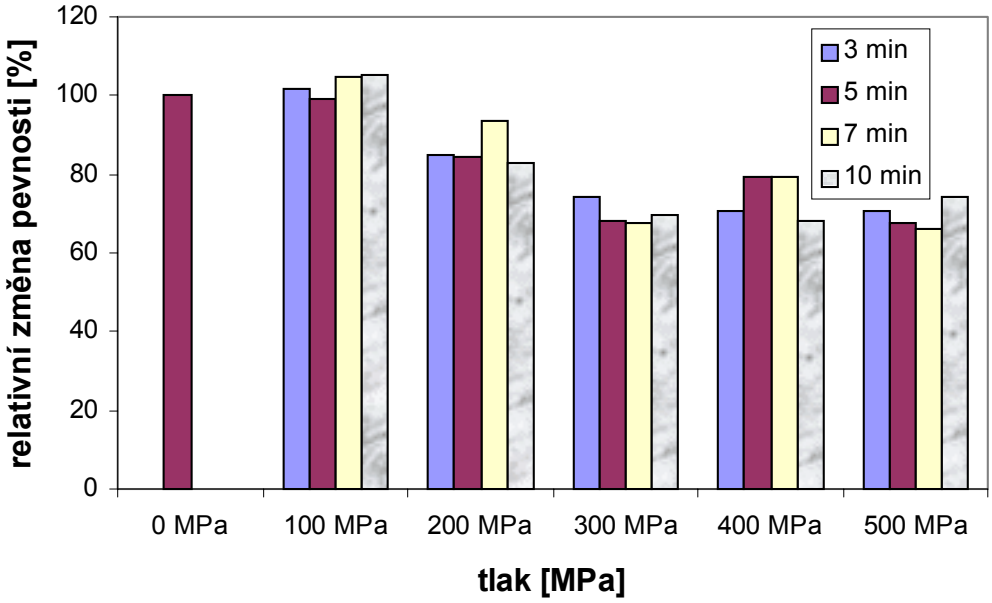
Červená řepa (odrůda červená kulatá)

Červená řepa se vyznačuje celkem rovnoměrnou strukturou s dřevitými růstovými “letorosty”, což při částečné kulatosti bulvy způsobovalo sklon vrstev oproti ose vzorku. Tlakem 100 MPa došlo k malému poklesu pevnosti (asi 75 %). Vlivem působení vysokého tlaku v rozsahu 200 až 500 MPa došlo k postupnému poklesu pevnosti oproti neošetřenému vzorku až na hodnotu kolem 35 % a to bez výrazného vlivu ošetřovací doby.

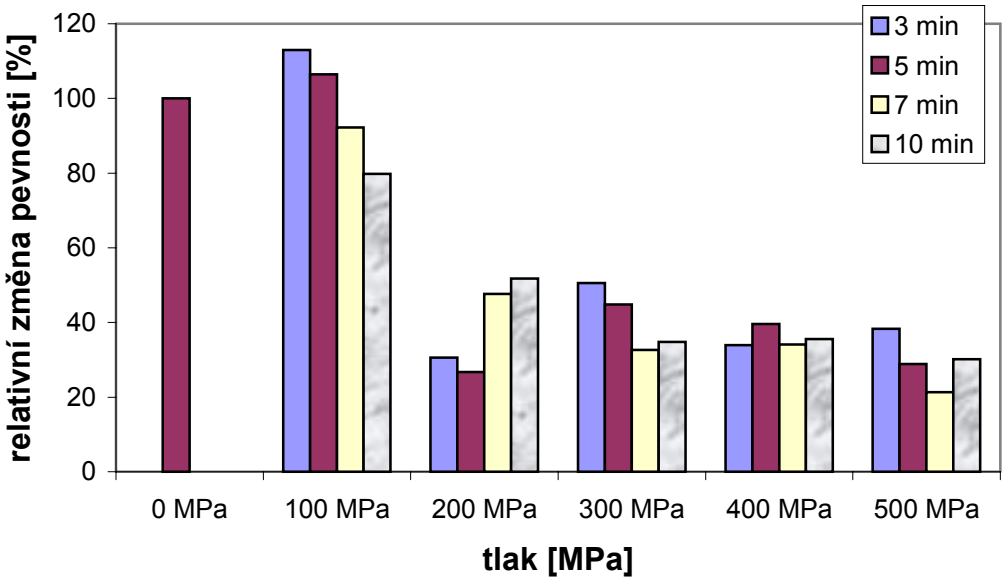
Závěr

Zelenina vlivem ošetření vysokým tlakem od 200 MPa ztrácí výrazně pevnost, kterou má v syrovém stavu. U brambor, ředkve, celeru dochází tlakem 100 MPa k malému zvýšení pevnosti. Celkově možno konstatovat, že naměřené hodnoty pevnosti ovlivňuje vlastní textura jednotlivých vzorků, t.j. ze které části “plodu” se vzorek odebírá, dále je ovlivňována dobou a způsobem skladování před ošetřením. Vzhledem k změnám pevnosti záleží velmi na vlastním způsobu použití a zpracování ošetřené zeleniny. Tlakované výrobky přes částečnou ztrátu vzhledu (častá sklovitost podobná blanžírování), zaujmou spotřebitele stálostí čerstvé chuti, obsahem nutričních látek a prodlouženou trvanlivostí.

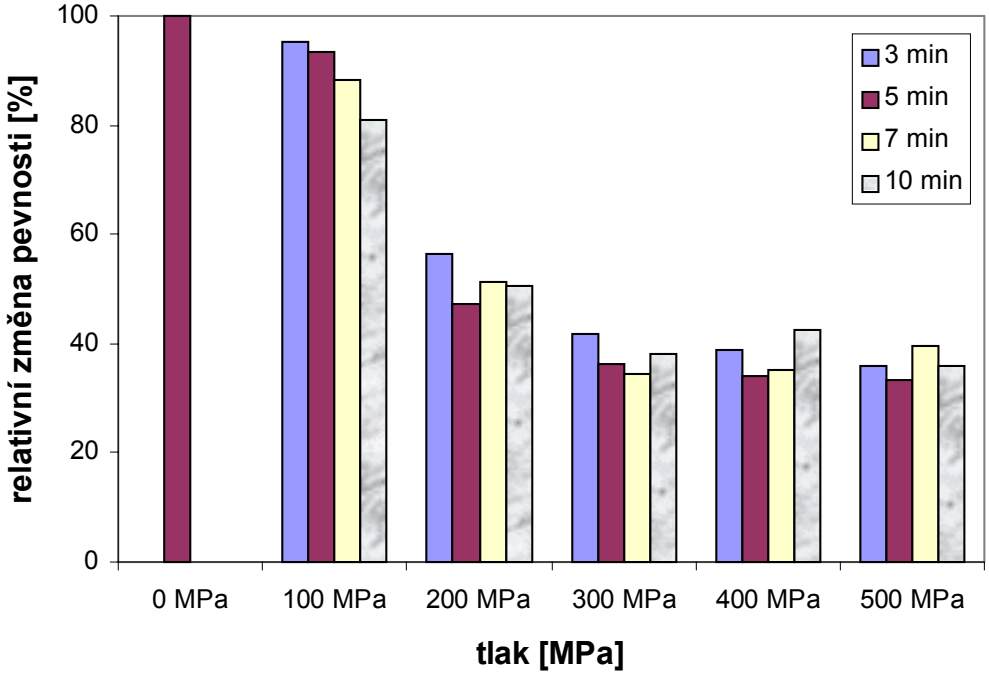
Obr. 1. Relativní změna pevnosti pro brambory v závislosti na době a velikosti ošetření vysokým tlakem v porovnání s neošetřeným vzorkem



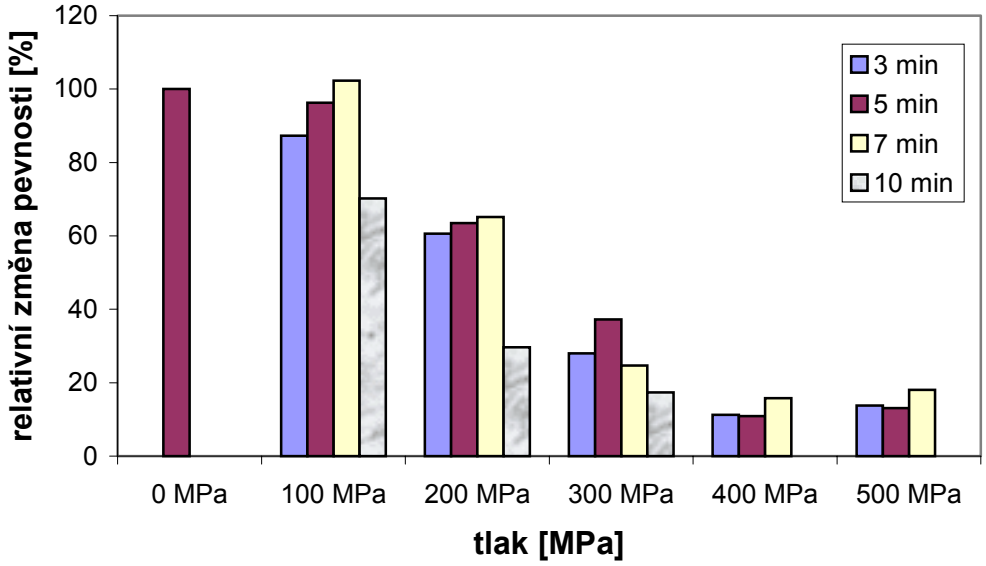
Obr.2. Relativní změna pevnosti pro bílou ředkev v závislosti na době a velikosti ošetření vysokým tlakem v porovnání s neošetřeným vzorkem



Obr. 3. Relativní změna pevnosti pro mrkev v závislosti na době a velikosti ošetření vysokým tlakem v porovnání s neošetřeným vzorkem



Obr. 4. Relativní změna pevnosti pro celer v závislosti na době a velikosti ošetření vysokým tlakem v porovnání s neošetřeným vzorkem



VLIV VYSOKÉHO TLAKU NA REOLOGICKÉ VLASTNOSTI A ZDRAVOTNÍ NEZÁVADNOST ŽLOUTKŮ

Strohalm J., Landfeld A., Novotná P., Kýhos K., Houška M.,
Výzkumný ústav potravinářský Praha, Rádiová 7, 102 31 Praha 10

Poděkování: Tato práce byla vypracována s podporou grantu MZe č. EP 9026 a projektu VÚPP 13016 Nové technologie zpracování potravin

Úvod

Jedním z dosud poměrně málo prozkoumaných moderních způsobů ošetřování potravin, za účelem docílení mikrobiální čistoty při maximálním zachování nutričních hodnot, je působení vysokým tlakem. Vlivem působení vysokého tlaku dochází nejen k inaktivaci mikrobů, ale i k ovlivnění některých vlastností ošetřovaných surovin. Tlak pomáhá vytvářet struktury gelu podobné gelům vytvořených teplotně indukovanou denaturací. Proces tvorby gelu je makroskopickým důsledkem denaturace (na molekulární úrovni) proteinů nebo dalších bio-makromolekul (Brůna, 1999).

Cílem této práce bylo zjistit, jak se mění viskozita tlakem ošetřených žloutků. Chtěli jsme určit parametry - index toku *n* a koeficient konzistence *K'* mocninového modelu a dále zjistit, zda má na výslednou viskozitu větší vliv velikost působícího tlaku nebo délka doby působení tlaku. Současně jsme prověřovali mikrobiologickou čistotu tlakem ošetřených žloutků po dlouhodobém skladování v chladu.

Materiál a metody

Použitá zařízení

- zařízení k ošetření vzorků vysokým tlakem: vysokotlaký lis CYX 6 / 0103 (ŽĎAS a. s., ČR) – objem tlakovací komory 2 litry, maximální ošetřovací tlak 600 MPa, použité rychlosti nárůstu tlaku 7 MPa/s a poklesu tlaku 160 MPa/s, tlakové médium pitná voda temperovaná
- teploměr Therm s čidlem Pt 100
- teploměr Omega HH 506R s termočlánky T
- přístroj k měření viskozity: rotační reometr Rheostress RS 150 (Haake, Německo)
- temperace vzorků: termostat Haake 20 (Haake, Německo)

Materiál a příprava vzorků

Z čerstvých slepičích vajec (cca 50 ks) byly odděleny žloutky. Získané množství bylo zhomogenizováno přecezením přes síto. Vzorky pro ošetření vysokým tlakem byly naplněny do lahviček 25 ml a ošetřeny vysokým tlakem. Byl zvolen působící tlak 100, 200, 300 a 400 MPa a doba působení 5, 10, 15 a 20 min a jako srovnávací byl použit vzorek neošetřený tlakem. Vzorek ošetřený tlakem 400 MPa po dobu 20 min již nebylo možno změřit, neboť stejně jako při použití tlaku 500 MPa došlo ke koagulaci žloutku.

Vzorky určené pro skladování byly po naplnění do sáčku PA/PE o tloušťce fólie 0,09 mm uzavřeny, ošetřeny tlakem 400 MPa po dobu 5 min a 600 MPa po dobu 15 min a uloženy při teplotě +5 až +8°C v chladničce.

Metodika měření viskozity

Žloutky byly měřeny téměř ihned po ošetření vysokým tlakem. Každý vzorek byl vytemperován na teplotu 25,5 °C. K měření na rotačním reometru Rheostress RS 150 byla zvolena sestava váleček Z38 a nádobka Z43. Temperace vzorku v reometru trvala cca 10 minut a pak bylo provedeno měření. Smykové rychlosti byly postupně zvyšovány od minima do maxima. Celkem

bylo změřeno 17 vzorků pro dané kombinace tlaků a dob působení. Byly naměřeny hodnoty smykových napětí jako funkce smykové rychlosti. Naměřená data byla dále zpracována regresní metodou nejmenších čtverců v log-log souřadnicích pro zdánlivou viskozitu. K popisu reologických vlastností byl použit mocninový model (Ulbrecht, Mitschka, 1965):

$$\mu_z = K' . \dot{\gamma}_{NN}^{n-1} , \qquad (1)$$

kde μ_z představuje zdánlivou viskozitu, *K'* koeficient konzistence a *n* index toku. Index toku je měřítkem newtonského nebo nenewtonského chování kapaliny.

Výsledky a diskuse

Hodnocení viskozity

Pro každý vzorek byla vynesena závislost tečného napětí na smykové rychlosti (reogram) a bylo určeno, zda v tomto reogramu není zlom. U žádného vzorku se tento zlom neprojevil a každá závislost byla určena jedinou přímkou. Metodou lineární regrese byly určeny parametry mocninového modelu – index toku *n* a koeficient konzistence K'. Ze vztahu (1) byly získány hodnoty viskozity v závislosti na smykové rychlosti a tyto průběhy byly vyneseny graficky. Parametrem byla velikost působícího tlaku nebo doba působení tlaku. Je patrné, že vysoký tlak ovlivňuje viskozitu žloutků. Velikost tlaku 100 MPa se na průběhu viskozity oproti vzorku tlakem neošetřenému téměř neprojevila. Avšak u vzorků ošetřených tlakem nad 200 MPa došlo k násobnému zvýšení viskozity, nejvíce pro vzorek ošetřený tlakem 400 MPa. Toto zvýšení viskozity je vysvětleno tím, že účinkem vysokého tlaku dojde k částečné koagulaci bílkovin a tím i ke změně konzistence. Mezi vzorky ošetřenými tlakem 200 a 300 MPa po dobu 15 a 20 min není téměř žádný rozdíl.

Pro parametry *n, K'* byla pro představu vypočtena střední kvadratická chyba průměru indexu toku *n,* a to pro vzorek ošetřený tlakem 200 MPa po dobu 5 min. Index toku tohoto vzorku měl hodnotu n=0,72 a střední chyba průměru činila 0,007. Graficky byly vyneseny závislosti indexu toku a koeficientu konzistence na působícím tlaku a na době působení tlaku (obr.1-4). Z obr. 1 je vidět, že index toku *n* s dobou působení mírně klesá. Větší pokles indexu toku nastane s rostoucím tlakem (obr. 2). Koeficient konzistence s dobou působení mírně roste. Nejstrmější nárůst nastává pro tlak 400 MPa, viz obr.3. S rostoucím tlakem roste prudce koeficient konzistence žloutků. V rozsahu doby působení 5-15 minut má na strmost nárůstu vliv i doba působení tlaku, viz obr. 4. Pro 400 MPa a dobu působení 20 minut není údaj, protože nastala koagulace vzorku a vzorek byl reologickými metodami neměřitelný.

Mikrobiologické hodnocení skladovaných vzorků

U neošetřených žloutků určených pro rychlou spotřebu a tepelné zpracování se při vyšetřeních v laboratořích Hygienické stanice hl. m. Prahy pohybovaly celkové počty mikrobů (CPM)/g řádově 10^6, koliformní mikroby/g 10^4 - 10^5, kvasinky/g do 10^3, plísně se nevyskytovaly. Výjimečně byl zaznamenán výskyt *Salmonelly, Bacillus cereus* případně *Staphylococcus aureus* (při nízkém výskytu koliformních mikrobů).

Porovnáme-li výsledky vyšetření vzorků tlakově ošetřených žloutků skladovaných po dobu 35 měsíců, zjistíme, že vzorek ošetřený tlakem 600 MPa po dobu 15 min vykázal přítomnost CPM pouze 2.10^2 mikrobů/g, tj. o 4 řády nižší než je průměrná hodnota v čerstvých vzorcích (viz výše). Vzorek ošetřený tlakem 400 MPa po dobu 5 minut vykázal sice přítomnost CPM $1,6.10^5$ mikrobů/g, ale i tato hodnota ukazuje v porovnání s průměrem na dobrý vliv ošetření vysokým tlakem, neboť po téměř 3 letech skladování je hodnota stále ještě o 1 řád nižší, než je průměrná hodnota. V obou

případech nebyl vůbec zaznamenán výskyt koliformních mikrobů, kvasinek, plísní ani dalších mikroorganismů.

Použitý obal folie PA/PE je propustný pro plyny a páry, a proto vlivem dlouhodobého skladování došlo k částečnému snížení obsahu vody, což se projevilo zejména na velmi tenké vrstvě vzorku v blízkosti uzavření obalu, která však pro mikrobiologické vyšetření nebyla použita. Při případných dalších pokusech s dlouhodobě skladovanými vzorky je nutno vzhledem ke složení žloutků (Souci et al., 1989): voda 50 %, proteiny 16,1 %, lipidy 31,9 %, uhlovodany 0,3 %, minerály 1,7 %, používat obalového materiálu s bariérovými vlastnostmi odpovídajícími požadované době skladování. Výsledek skladovací pokusu, jehož výstupem je protokol o mikrobiálním složení tlakem ošetřených a 35 měsíců skladovaných žloutků, není statisticky průkazný, avšak naznačuje, čeho lze vysokotlakým ošetřením dosáhnout.

Závěr

U tlakem ošetřených žloutků došlo k částečné koagulaci a tím i ke změně konzistence. Oproti přírodnímu tlakem neošetřenému žloutku se u vzorků ošetřených tlakem snížil index toku (staly se více nenewtonskou kapalinou) a zvýšil se koeficient konzistence, více se tento jev projevil u vzorků ošetřených tlakem nad 200 MPa a po delší době působení (15-20 min).

Výsledky mikrobiologického vyšetření tlakem ošetřených žloutků, skladovaných 3 roky v chladu, nám ukázaly, že je možno prodloužit jejich trvanlivost přesahující výrazně dobu 6 měsíců a to bez přidání konzervačních látek. Je vhodné použít bariérové obaly zabraňující vysychání. Dobu a velikost působícího tlaku je nutno přizpůsobit požadované mikrobiální čistotě a době trvanlivosti takto ošetřených žloutků.

Seznam symbolů

n	index toku	[-]
K'	koeficient konzistence	[Pa s^n]
$\dot{\gamma}_{NN}$	smyková rychlost	[s^{-1}]
μ_z	zdánlivá viskozita	[Pa s]

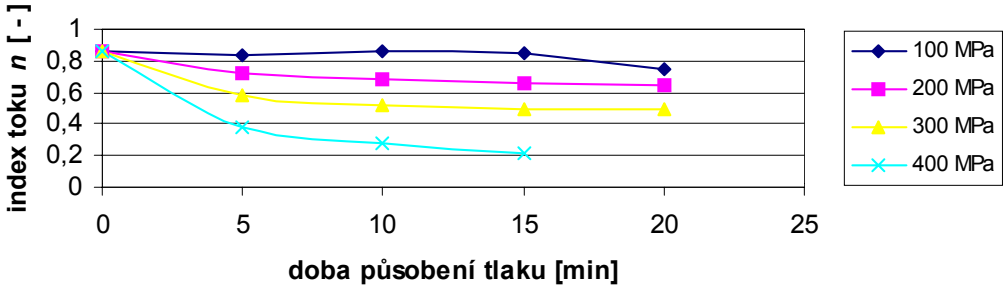
Použitá literatura

Brůna D.: Vliv vysokého tlaku na vybrané chemické a enzymové procesy při zpracování potravin, Disertační práce, VŠCHT Praha, 1999

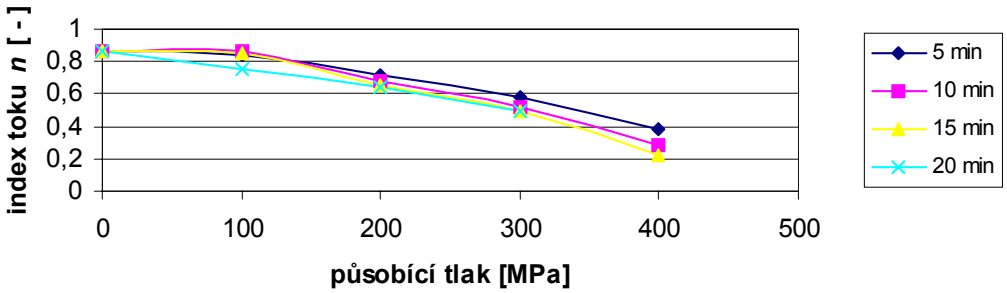
Sourci S. W., Fachmann W., Kraut H.: Food Composition and Nutrition Tables, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1989

Ulbrecht J., Mitschka P.: Chemické inženýrství nenewtonských kapalin, str. 22., N ČSAV, Praha 1965

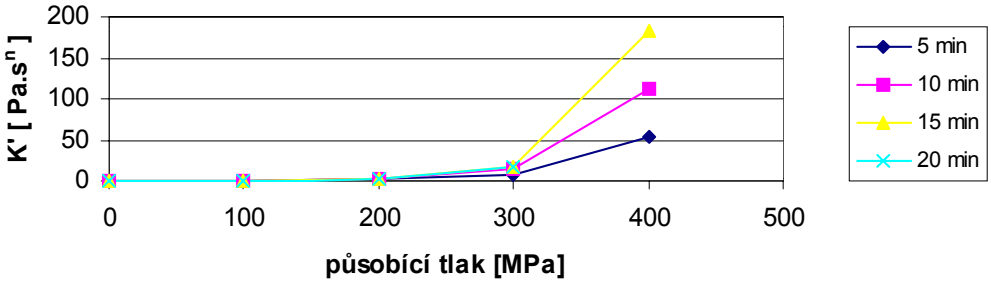
Obr. 1 Závislost indexu toku *n* žloutků na době výdrže a tlaku



Obr. 2 Závislost indexu toku *n* žloutků na působícím tlaku



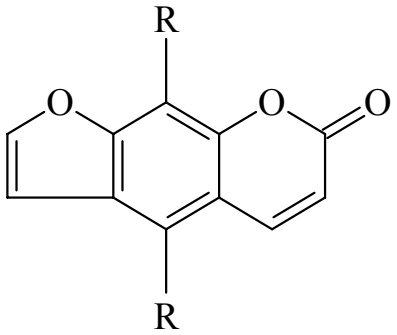
Obr. 4 Závislost koeficientu konzistence *K'* žloutků na působícím tlaku

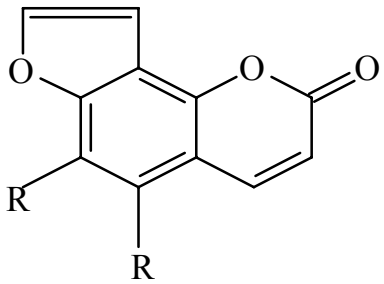


SLEDOVÁNÍ HLADIN FURANOKUMARINŮ V ZELENINĚ

Peroutka R., Schulzová V., Hajšlová J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6
e-mail.: Radek.Peroutka@vscht.cz

Furanokumariny jsou přírodní toxiny vyskytují se v různých rostlinných čeledích. Nejvyšší nálezy byly zaznamenány v zemědělských plodinách reprezentující čeleď *Umbelliferae*[1,2] (celer - 45 mg/kg [3], pastinák- 145 mg/kg [4] a petržel - 112 mg/kg [5]) a *Rutaceae* (citrusové plody[6] - 0,3 mg/l v grapefruitovém džusu)[2]. Hladiny v ostatních čeledích *Fabaceae, Moraceae, Pittosporaceae, Solanaceae, Amaranthaceae, Rosaceae a Cyperaceae*[3] jsou již nižší. Distribuce furanokumarinů v jednotlivých částech rostlin je nerovnoměrná, vyšší obsahy lze očekávat v listech a zelených částech rostlin. Hladiny v plodech a kořenech bývají výrazně nižší, nicméně obsah furanokumarinů mnohdy narůstá, někdy až o řád, vlivem stresových faktorů (např. mechanické poškození, nepříznivé klimatické vlivy, napadení plísněmi atd.). Důležitou vlastností těchto toxinů je tepelná stálost při kuchyňském zpracování[4].
Dosud je známo 52 furanokumarinů, obecně je podle strukturního uspořádání molekuly lze rozdělit na lineární (Obr.1a), tzv. psoralenový typ (kam patří psoralen, bergapten, xanthotoxin, isopimpinellin, trioxalen atd.) a angulární (Obr. 1b), tzv. angelicinový typ (angelicin, isobergapten, sfondin, pimpinellin atd.)[1]. Dostupná data naznačují, že přítomnost furanokumarinů pozitivně ovlivňuje odolnost rostlin vůči chorobám a škůdcům, u savců ovšem mohou působit po kontaktu s kůží a vystavení účinkům UV záření (respektive slunečního záření) fototoxicky projevující se různým kožním onemocněním. V experimentech se zvířaty byla při vysokých koncentracích prokázána karcinogenita (tvorba aduktů s DNA[7]).





Obr. 1a
R= OMet, H, atd.

Obr. 1b

Cílem studie bylo sledování hladin furanokumarinů v zelenině pěstované konvenčním a ekologickým způsobem, případně sledování vlivu stresových faktorů na celkový obsah těchto toxinů.

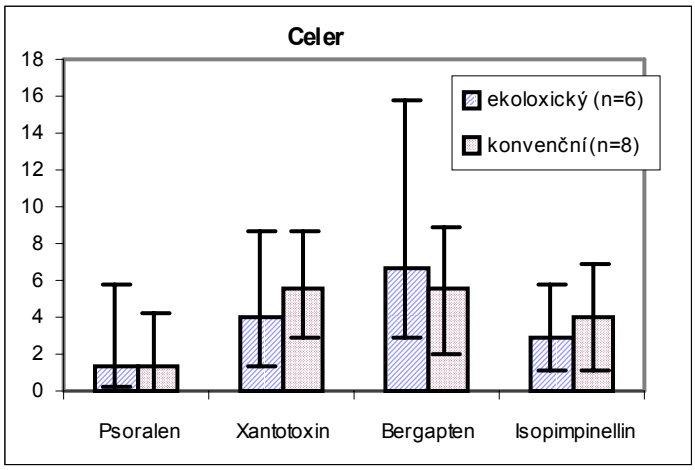
Materiál a metoda

Chemikálie: Angelicin (angel), psoralen (psor), bergapten (berga), sfondin (sfon), isobergapten (isoberga), xanthotoxin (xantho) a trioxalen (triox) byly dodány firmou Sigma-Aldrich, isopimpinellin (isopim) firmou INDOFINE Chemical Company. Pro extrakci ze vzorků byl používán ethylacetát od firmy Scharlau.

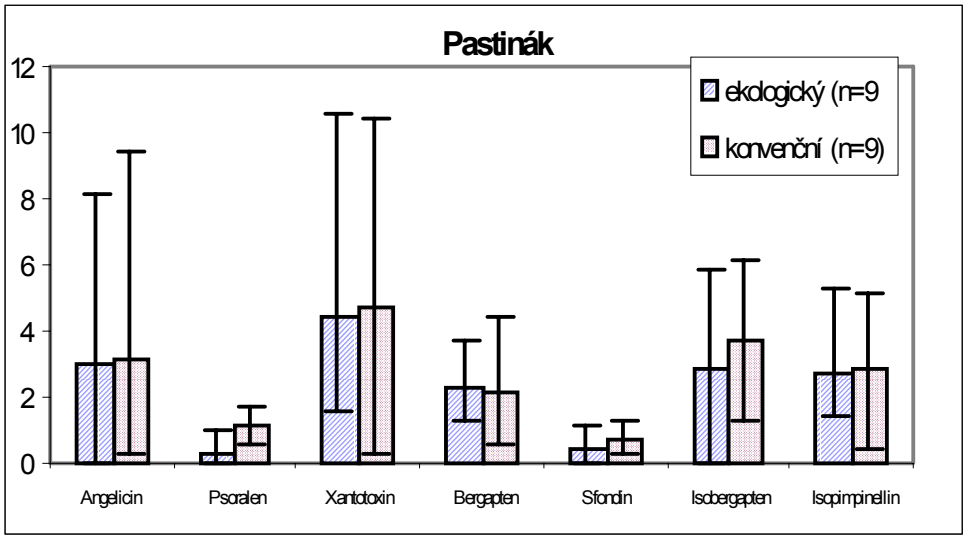
Vzorky křenu a ředkve byly zakoupeny v tržní síti ČR. Celer, pastinák a mrkev byly vypěstovány ve Švédsku konvenčním a ekologickým způsobem. Tyto produkty byly dodány ve dvou zásilkách. První (A) obsahovala celé vzorky, které byly po sklizni a během transportu mechanicky poškozeny, popřípadě napadeny plísní nebo částečně nahnilé. K analýzám byla vždy používána pouze nepoškozená část kořene. V druhé zásilce (B) byly vzorky homogenizovány a zmraženy bezprostředně po sklizni a transportovány ve zmrzlém stavu.
Metoda: Vzorek očištěný od mechanických nečistot byl homogenizován a 10 g homogenátu bylo extrahováno 2x 40 ml ethylacetátu na třepačce, po filtraci byly spojené extrakty doplněny do 100 ml. Furanokumariny byly identifikovány a kvantifikovány metodou plynové chromatografie (GC) na koloně DB-5MS 60 x 0.25 x 0.25 (J&W Scientific) za použití hmotnostně selektivního detektoru (MS) provozovaného v módu monitorující vybrané iontové druhy (SIM).

Výsledky a diskuse

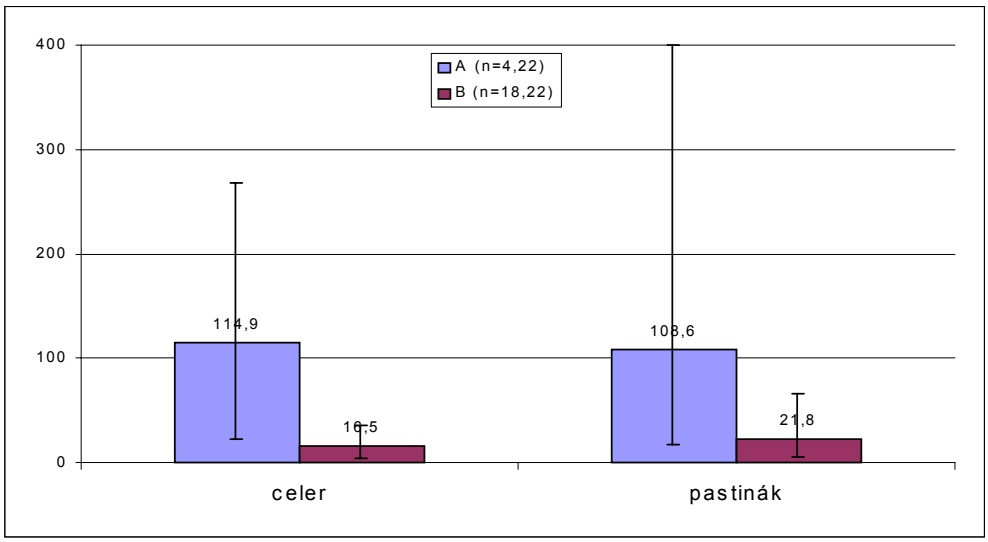
V námi realizované studii byla vyvinuta metoda GC/MS (SIM) s výtěžností pro jednotlivé furanokumariny v rozmezí 89 % do 97% na hladině přídavku 10 mg/kg (experiment byl realizován s využitím vzorku celeru a pastináku s velmi nízkými hladinami). Opakovatelnost metody vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka se pohybovala od 2,9% do 7,5 %. Mez detekce za podmínek metody byla 3 µg/kg pro všechny sledované analyty.
Vliv způsobu pěstování na obsah furanokumarinů nebyl zjištěn v žádných ze sledovaných plodin. (Obr. 2 a 3). Byl ovšem zjištěn značný vliv stresových faktorů na obsah sledovaných toxinů. Obrázek 4 dokumentuje několikanásobně vyšší hladiny furanokumarinů ve vzorcích ze skupiny A v porovnání se vzorky, které byly homogenizované a zmražené ihned po sklizni. Nejvyšší hladiny analytů byly zaznamenány v nahnilém pastináku (analýza pouze ze zdravé části), součet všech sledovaných furanokumarinů byl 400 mg/kg.
Pro ověření těchto výsledků byla iniciována studie stability furanokumarinů během skladování homogenátu po dobu tří týdnů v mrazicím boxu, byl shledán jen nepatrný pokles hladin furanokumarinů.
Celkový obsah všech furanokumarinů ve vzorcích skupiny B (Obr. 5) se pohyboval podle očekávání (v pastináku 3-60 mg/kg, celeru 4-40 mg/kg a mrkvi <LOD-2 mg/kg). Relativně vysoké hladiny (srovnatelné s výskytem v mrkvi) byly zaznamenány v ředkvi (0,1 mg/kg) a zejména v křenu (0,3 mg/kg). Výskyt těchto toxinů v posledně jmenovaných matricích patřící do čeledi Brassicaceae doposud nebyl publikován.



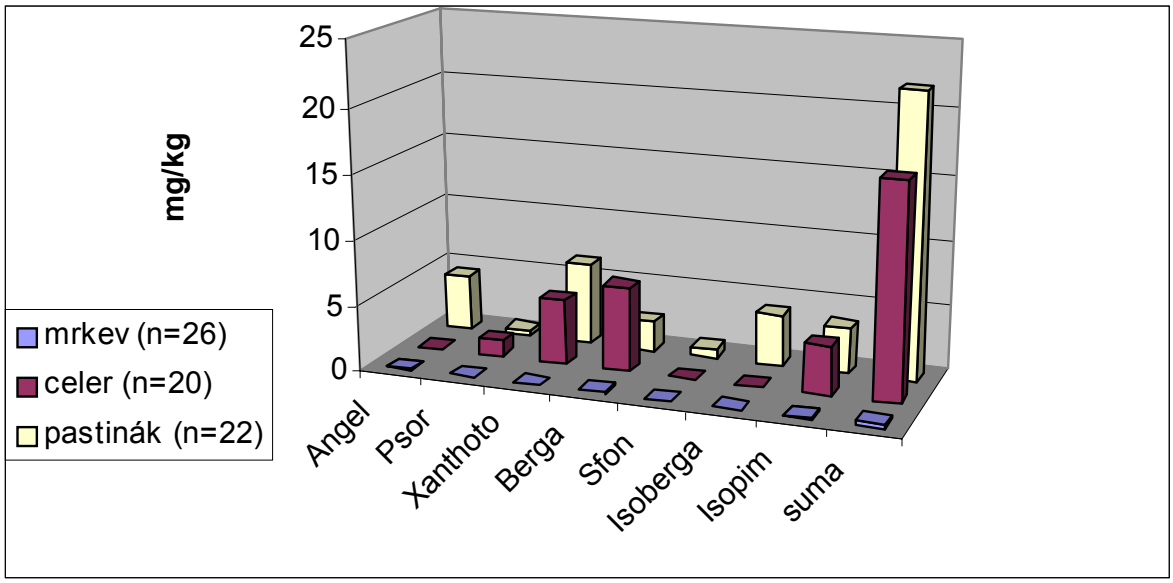
Obr. 2: Vliv způsobu pěstování na hladiny furanokumarinů v mg/kg celeru (v rozmezí maximálních a minimálních naměřených hladin)



Obr. 3: Vliv způsobu pěstování na hladiny furanokumarinů v mg/kg pastináku (v rozmezí maximálních a minimálních naměřených hladin)



Obr. 4: Průměrný obsah furanokumarinů (mg/kg) ve vzorcích skupin A a B (v rozmezí maximálních a minimálních naměřených hladin)



Obr. 5: Výskyt furanokumarinů ve vzorcích skupiny B

Reference

1. Health-Pagliuso S., Matlin S. A., Fang N., Thompson R. H. and Rappaport L.: *Phytochemistry*, 1992, Vol. 31, 2683-2688
2. Järvenpää E. P., Jestoi N. M. and Houpalahti R.: *Phytochemical analysis*, 1997., Vol. 8, 250-256
3. Diawara M. M., Trumble J. T., Quiros C. F. and Hensen R.:*J. Agric. Food Chem.*, 1995, Vol. 43, 723-727
4. Lombeart G. A, Sieements K. H., Pellars P., Mankotia M. and Ng W.: *Journal of AOAC International*, 2001, Vol. 84, 1135-1143
5. Bier R. C., Ivie B. W. and Oertli E. H.: *Phytochemistry,* 1994, Vol. 36, 869-872
6. Fukuda A., Guo L., Ohaski N., Yoshikawa M. and Yamazoe Y.: *Journal of chromatography*, 2000, Vol. 741, 195-203
7. Cardoso C. A. L., Vilegas W. and Honda N. K.: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis* 2000, Vol. 22, 203-214

Tato práce byla prováděna v rámci Výzkumného projektu MSM 223300004 „Zlepšování kvality potravin a zajištění optimální výživy obyvatelstva“, garantované Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

OBSAH A VZNIK 3-CHLORPROPAN-1,2-DIOLU

Calta P., Doležal M., Velíšek J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6

3-Chlorpropan-1,2-diol (3-MCPD) byl stanoven metodou plynové chromatografie s plamenovým-ionizačním detektorem po derivatizaci fenylboronovou kyselinou. Vznik 3-MCPD byl sledován v reakcích chloridu sodného s trioleinem. Obsah 3-MCPD byl sledován v závislosti na teplotě (100 °C-230 °C), různém obsahu chloridu sodného (0-10 %, m/m) a vody (0–25 %, m/m). S rostoucí teplotou vzrůstala i koncentrace 3-MCPD, především při teplotách nad 200 °C docházelo k výraznému nárůstu jeho množství. Obsah 3-MCPD se v oblasti 10–20 % (m/m) vody prakticky neměnil. V modelových reakcích bez vody a s množstvím vody přesahujícím 20 % docházelo ke snížení obsahu 3-MCPD. Nejvyšší koncentrace 3-MCPD (0,87 mg/kg) bylo dosaženo při teplotě 230 °C ,v přítomnosti 5 % (m/m) chloridu sodného a 20 % (m/m) vody.

klíčová slova: 3-chlorpropan-1,2-diol, 3-MCPD, bílkovinné hydrolyzáty

3-Chlorpropan-1,2-diol (3-MCPD) patří do skupiny chlorovaných derivátů glycerolu nazývaných chlorhydriny glycerolu, nebo také chlorpropanoly. Tyto látky byly v potravinách poprvé identifikovány v roce 1978. 3-MCPD byl identifikován až v roce 1981 jako hlavní endogenní kontaminant kyselých bílkovinných hydrolyzátů (Davídek et al., 1981). V potravinách jsou jeho hlavními prekurzory lipidy, případně glycerol, a z látek obsahujících chlor je to v případě kyselých bílkovinných hydrolyzátů kyselina chlorovodíková a u ostatních potravin (cereální výrobky, sýry a mléčné výrobky, maso a masné produkty, Tabulka I) chlorid sodný. Dalším zdrojem chlorpropanolů může být kontaminace potravin z epichlorhydrinových pryskyřic, které jsou složkou obalových materiálů (umělá střívka pro masný průmysl), nebo jsou součástí ionexů pro úpravu vody (Macarthur et al., 2000).

Do dnešní doby jsou nejvýznamnějším zdrojem 3-MCPD kyselé bílkovinné hydrolyzáty (Tabulka I), které jsou složkou mnoha potravin (sójové omáčky, kořenící přípravky, atd.). Podle druhu hydrolýzy rozeznáváme dva druhy hydrolyzátů. Prvním typem je již zmiňovaná kyselá hydrolýza, kde dochází k vaření bílkovinných surovin s kyselinou chlorovodíkovou. Při tomto drastickém procesu vzniká 3-MCPD v koncentraci 100–800 mg/kg. Z tohoto důvodu musí za tímto procesem následovat dekontaminace, nebo je kyselý hydrolyzát smíchán s hydrolyzátem enzymovým. Enzymový hydrolyzát, který má dominantní postavení na asijském trhu, je druhým z typů hydrolýzy bílkovinné suroviny. Při tomto postupu 3-MCPD nevzniká, jistou nevýhodou jsou vyšší ekonomické náklady na výrobu a odlišné organoleptické vlastnosti (Olsman, 1979).

Chlorpropandioly se společně s dalšími halogensloučeninami řadí mezi kontaminanty poživatin. V potravinách se předpokládá přeměna 3-MCPD na genotoxický glycidol, který se přímo aduje na DNA (Frei a Würgler, 1997). Na základě podkladů z toxikologického posudku, Scientific Committee for Food (SCF) v roce 1995 rozhodla, že se má na 3-MCPD pohlížet jako na genotoxický karcinogen. V roce 1996 bylo toto hodnocení potvrzeno Food Advisory Commitee (FAC) , která rozhodla snížit obsah 3-MCPD ve všech poživatinách a ingrediencích na nejcitlivější metodou detegovatelné minimum (Chung et al., 2002). V roce 2000 bylo provedeno toxikologické posouzení ve Velké Británii, které ukázalo, že 3-MCPD nepůsobí jako genotoxický karcinogen in vivo, ale vykazuje mutagenní účinky in vitro (Crews et al., 2002).

Po objevení 3-MCPD v bílkovinných hydrolyzátech, byly v řadě zemí postupně přijaty maximální přípustné koncentrace 3-MCPD. Tyto maximální koncentrace byly přizpůsobovány detekčním limitům pro 3-MCPD a snižovány s vývojem citlivějších analytických přístrojů.

Tabulka I Obsah 3-MCPD v potravinách

Komodita	Obsah 3-MCPD (mg/kg)	Literární odkaz
Sójová omáčka (Taiwan)	13,0	Macarthur *et al*., 2000
Sójová omáčka (Čína)	0,857	Macarthur *et al*., 2000
Sójová omáčka (Korea)	0,016	Macarthur *et al*., 2000
Obilný chléb	0,023	Crews *et al*., 2002
Černý chléb	0,029	Crews *et al*., 2002
Bílý chléb	0,049	Crews *et al*., 2002
Tavený sýr	0,017	Crews *et al*., 2001
Parmesan	< 0,005	Crews *et al*., 2001
Kozí sýr	< 0,005	Crews *et al*., 2001
Salám	0,069	Crews *et al*., 2002
Uzený losos	0,026	Crews *et al*., 2002
Ančovičky v oleji	0,081	Crews *et al*., 2002

V České republice platí od 1. dubna vyhláška č. 53/2002 (příloha č. 2), která stanovuje nejvyšší přípustné množství pro hydrolyzovanou rostlinnou bílkovinu, potraviny obsahující hydrolyzovanou rostlinou bílkovinu a sójové omáčky na 0,02 mg/kg. V Evropské Unii platí od 5. dubna 2002 maximální limit 0,02 mg/kg 3-MCPD v sójových omáčkách a bílkovinných hydrolyzátech (*Commision Regulation* 466/2001).

Materiál a metody

Chemikálie: 3-Chloropropan-1,2-diol a propan-1,2-diol (Merck-Schuchardt, Hohennbrunn, GER), fenylboronová kyselina (Fluka Chemie AG, Buchs, SUI), triolein (Downs Development Chemikals, UK).

Metoda: Pro stanovení obsahu 3-MCPD byla použita Plantingova metoda (Plantinga *et al*., 1991), která spočívá v derivatizaci netěkavého 3-MCPD na těkavý 3-MCPD-fenylboronát a jeho následném stanovení metodou GC-FID. Do 5 ml ampule bylo naváženo 200 mg trioleinu, 10 mg chloridu sodného (5 %), 48 µl vody (20 %) a 30 mg Tweenu. Ampule byla zatavena a zahřívána 30 minut při teplotě 200 °C. Po ochlazení byla směs extrahována hexanem, přidán vnitřní standard (propan-1,2-diol, 1 g/l) a poté reextrahována vodou. Vodný extrakt byl odpařen do sucha a k odparku přidány 2 ml 20 % chloridu sodného a 200 µl derivatizačního činidla (fenylboronová kyselina rozpuštěná ve směsi aceton-voda). Celá směs byla dána na 20 minut na vodní lázeň (90 °C). Po ochlazení byla směs extrahována 1 ml hexanu a nastříknut 1 µl z hexanové vrstvy.

Vliv koncentrace chloridu sodného na vznik 3-MCPD: Modelové pokusy s trioleinem (200 mg), Tweenem (30 mg), 48 µl vody (20 %) a NaCl v rozmezí od 0 % do 10 % (m/m, vyjadřuje hmotnostní procenta z trioleinu) byly prováděny při 200 °C.

Vznik 3-MCPD v závislosti na obsahu vody: Experimenty byly prováděny s trioleinem (200 mg), Tweenem (30 mg), 10 mg NaCl (5 %) a vodou v množstvích pohybujících se od 0 % do 25 % (m/m, hmotnostní procenta ze sumy triolein/NaCl/Tween) při 200 °C.

Vliv teploty na obsah 3-MCPD: Modelové pokusy byly prováděny s trioleinem (200 mg), Tweenem (30 mg), 10 mg NaCl (5 %) a 48 µl vody (20 %) při teplotách v rozsahu od 100 °C do 230 °C.

Plynová chromatografie: Analýzy byly prováděny na přístroji Hewlett-Packard HP 6890 (Palo Alto, California, USA), který byl vybaven plamenovým-ionizačním detektorem (FID) a křemennou kapilární kolonou SPB-1 délky 30 m, s vnitřním průměrem 0,25 mm a tloušťkou filmu 1 µm. Teplota injektoru byla 250 °C, teplota detektoru 300 °C. Teplota kolony byla lineárně programována od 80 °C s rychlostí nárůstu 5 $°C.min^{-1}$ do 300 °C. Průtok mobilní fáze (helium) kolonou byl 0,5 $ml.min^{-1}$ (split poměr 1:2).

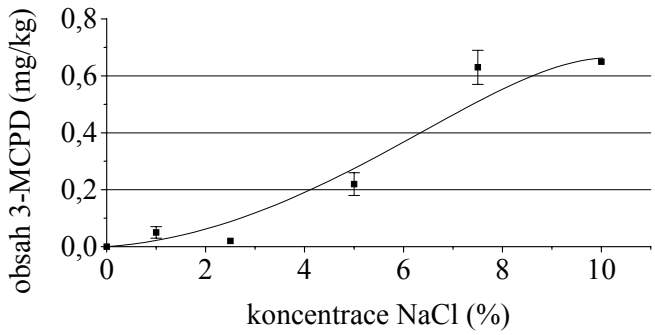
Výsledky a diskuse

V modelových systémech byl sledován vznik 3-MCPD za různých experimentálních podmínek. Všechny pokusy byly prováděny s trioleinem, který byl vybrán jako zástupce triacylglycerolů, což jsou jedny z hlavních prekurzorů 3-MCPD v potravinách.

První ze sledovaných závislostí byl vliv koncentrace chloridu sodného na vznik 3-MCPD (obrázek 1). Koncentrace chloridu sodného byla zvolena v rozmezí 0-10 %, protože toto rozmezí pokrývá množství chloridu sodného u většiny potravin. Jak je vidět v grafu (obrázek 1), při nulové koncentraci chloridu sodného nevznikal žádný 3-MCPD, což je způsobeno nepřítomností chloridových iontů v reakční směsi. S rostoucí koncentrací chloridu sodného docházelo v celém koncentračním rozmezí k nárůstu hodnot množství 3-MCPD. Nejvyšší obsah 3-MCPD (0,65 mg/kg) byl stanoven při 10 % chloridu sodného (Tabulka II).

Tabulka II Vliv koncentrace chloridu sodného na vznik 3-MCPD (mg/kg)

	Koncentrace NaCl (%)					
	0	1	2,5	5	7,5	10
1. stanovení	0	0,01	0,00	0,02	0,07	0,07
2. stanovení	0	0,00	0,00	0,02	0,06	0,06
průměr	**0**	**0,05**	**0,02**	**0,22**	**0,63**	**0,65**
s_R	**0**	**0,00**	**0,00**	**0,00**	**0,01**	**0,00**

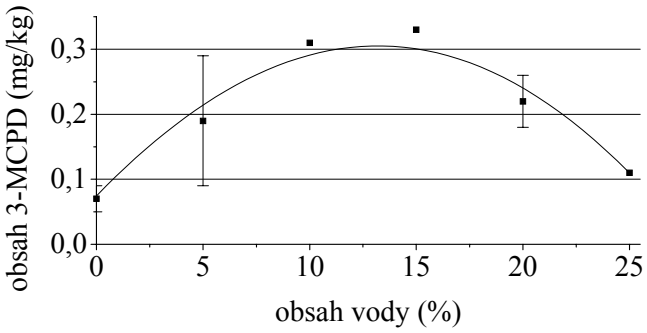


Obrázek 1 Vliv koncentrace chloridu sodného na vznik 3-MCPD

Další sledovanou závislostí byl vznik 3-MCPD v prostředí s různým množstvím vody (obrázek 2). Modelové pokusy byly prováděny v rozmezí 0-25 % vody. Toto rozpětí simulovalo obsah vody v povrchových vrstvách potravin. Z naměřených výsledků vyplývá, že optimální obsah vody je pro reakce s trioleinem mezi 10-20 %. Při obsahu vody pod 10 % nebo nad 20 % docházelo k výraznému poklesu obsahu 3-MCPD.

Tabulka III Vznik 3-MCPD (mg/kg) v závislosti na obsahu vody

	Obsah vody (%)					
	0	5	10	15	20	25
1. stanovení	0,06	0,13	0,30	0,33	0,19	0,11
2. stanovení	0,08	0,24	0,31	0,33	0,24	0,11
průměr	**0,07**	**0,19**	**0,31**	**0,33**	**0,22**	**0,11**
s_R	**0,02**	**0,10**	**0,00**	**0,00**	**0,04**	**0,00**

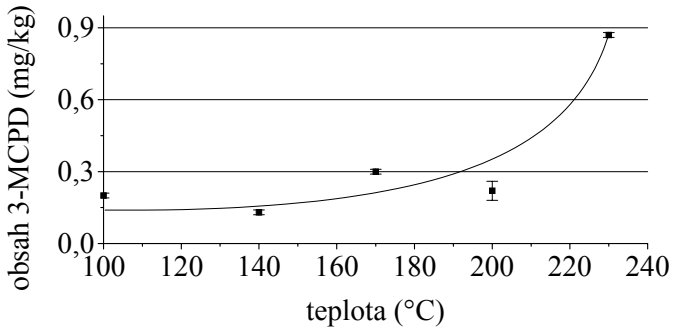


Obrázek 2 Vznik 3-MCPD v závislosti na obsahu vody

Poslední sledovanou závislostí byl vliv teploty na obsah 3-MCPD (obrázek 3). Teploty byl voleny tak, aby zahrnovaly běžné teploty při úpravě potravin během kulinářského zpracování. Z grafu je vidět, že teploty v rozmezí 100–200 °C neměly výrazný vliv na obsah 3-MCPD. Avšak při teplotách nad 200 °C docházelo k velkému nárůstu množství 3-MCPD. Při teplotě 230 °C byla naměřena i nejvyšší koncentrace 3-MCPD (0,87 mg/kg) ze všech prováděných modelových pokusů (Tabulka IV).

Tabulka IV Vliv teploty na obsah 3-MCPD (mg/kg)

	Teplota (°C)				
	100	140	170	200	230
1. stanovení	0,20	0,13	0,29	0,19	0,86
2. stanovení	0,19	0,12	0,30	0,24	0,87
průměr	**0,20**	**0,13**	**0,30**	**0,22**	**0,87**
s_R	**0,01**	**0,01**	**0,01**	**0,04**	**0,01**



Obrázek 3 Vliv teploty na obsah 3-MCPD

Literatura

Crews C., Brereton P., Davies A. (2001): Food Additives and Contaminants, **18:** 271-280.
Crews C., Hough P., Brereton P., Harvey D., Macarthur R., Matthews W. (2002): Food Additives and Contaminants, **19:** 22-27.
Davídek J., Velíšek J., Kubelka V. (1981): Proc. Euro. Food Chem.I. Vienna, Austria, 7-20.
Frei H., Würgler F.E. (1997): Mutation Research, **394:** 59-68.
Chung W., Hui K., Cheung S. (2002): Journal of Chromatography A, **952:** 185-192.
Macarthur R., Crews C., Davies A., Brereton P., Hough P., Harvey D. (2000): Food Additives and Contaminants, **17:** 903-906.
Olsman H. (1979): Journal of American Oil Chemists´Society, **56:** 375-377
Plantinga W.J., Van Toorn W.G., Van Der Stegen G.H.D. (1991): Journal of Chromatography, **555:** 311-314.

VÝVOJ METODY PRO STANOVENÍ ALTERNARIOVÝCH MYKOTOXINŮ

Králová J., Hajšlová J., Rieglová P., Radová Z.

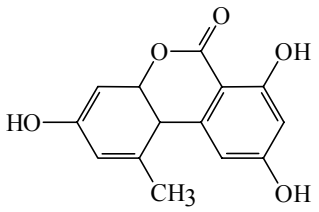
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6-Dejvice
e-mail: jana.kralova@vscht.cz

Rod *Alternarium* je velmi rozšířeným druhem plísně, napadajícím zemědělské plodiny nejen v předsklizňovém období, ale i během skladování. Sekundárními metabolity těchto plísní jsou alternariové mykotoxiny, vyvolávající různé toxické reakce u zvířat. Většina z nich vykazuje cytotoxickou aktivitu. Z kultur toxinogenních druhů plísní rodu *Alternarium* bylo dosud izolováno přibližně 30 potenciálně toxických sloučenin.

Podle chemické struktury je lze rozdělit do 4 skupin :

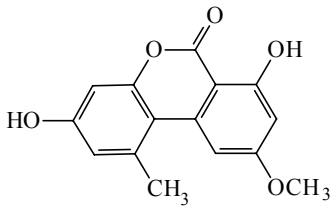
- *dibenzo-α-pyronové deriváty* – alternariol (AOH), alternariol monomethyl ether (AME), altenuen (ALT), isoaltenuen (isoALT)
    - *perylenové deriváty* – alterotoxin I, II, III (ATX I, II, III), sthemphyltoxin III
    - *derivát tetrámové kyseliny* – tenuazonová kyselina (TA)
    - *strukturní analogy sfingosinu* – AAL-toxin

Mezi nejvýznamnější alternariové mykotoxiny patří alternariol, alternariol monomethyl ether, altenuen a tenuazonová kyselina (Obr. 1).



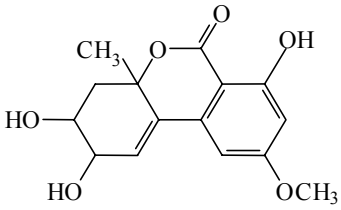
Alternariol

Mr 258,2



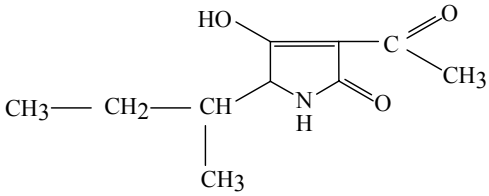
Alternariol monomethyl ether

Mr 272,3



Altenuen

Mr 292,3



Tenuazonová kyselina

Mr 197,0

Obr. 1. Strukturní vzorce nejvýznamnějších alternariových mykotoxinů

Akutní toxicita alternariolu a alternariol monomethyl etheru je nízká (oba patří mezi fetotoxiny). Alternariol způsobuje například zvýšený výskyt fetální resorpce u myší. Expozice alternariolu monomethyl ether může u hlodavců způsobit nekrosy vnitřních orgánů a bylo prokázáno i snížení hmotnosti plodu. Mutagenní efekty alternariolu a alternariol monomethyl etheru nebyly zatím přesněji specifikovány. V některých potravinách či plodinách byly nalezeny současně dva i více

mykotoxinů plísní rodu *Alternarium*. Je pravděpodobné, že všechny tyto sloučeniny mohou mít synergistické účinky.[1, 2]

Mezi nejvýznamnější producenty těchto mykotoxinů patří A. alternata, A. cucumerina, A. dauci, A kikuchiana a A. citri. Kromě plísní rodu Alternarium produkují např. tenuazonovou kyselinu také plísně Aspergillus nomius, Magnaporthe grisea a Phoma sorghima.(3)

Pro izolaci alternariových mykotoxinů z potravin je nejčastěji používaná extrakce organickými rozpouštědly. Mezi nejčastěji uváděné extrakčí činidlo patří methanol. Dále jsou také používána rozpouštědla jako ethylacetát, chloroform, acetonitril, aj.

Nejvíce používaný čistící krok uváděný v literatuře je reextrakce kapalina-kapalinou (LLE). Pro methanolový extrakt je nejčastěji popsána LLE (po přídavku roztoku síranu amonného) dichlormethanem a chloroformem[4] , pro acetonitrilový extrakt po okyselení a přídavku roztoku octanu olovnatého dichlormethanem[5] a pro ethylacetátový extrakt je popsáno vytřepání matričních koextraktů pomocí vodného roztoku hydrogenuhličinanu sodného.[6]

V současné době je nejčastěji používanou analytickou koncovkou pro stanovení zmíněných mykotoxinů vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Příležitostně se též používá chromatografie na tenké vrstvě (TLC) a po derivatizaci lze použít i plynovou chromatografii (GC).

Pro detekci sledovaných analytů metodou kapalinové chromatografie je používán fluorescenční detektor (FLD) a spektrofometrické detektory (UV detektor a detektor diodového pole (DAD)). Popsáno je také použití elektrochemického detektoru (EC).(7)

Chromatografie na tenké vrstvě byla nejvíce používanou metodou pro analýzu alternariových mykotoxinů v 70. a 80. letech. V současnosti její použití ustupuje do pozadí. Důvodem jsou detekční limity této metody, které se oproti HPLC a GC pohybují na vyšších hladinách. Výhodou je však jednoduchost a nízké finanční náklady na analýzu.

Alternariové mykotoxiny patří mezi látky relativně polární a před jejich stanovením pomocí GC metod je proto nutné zvýšit jejich těkavost derivatizací. Popsány byly různé způsoby derivatizace (TMS, HFB, aj.) v kombinaci s různými systémy GC a detektory (MS, FID). (8)
Byla publikována také nechromatografická metoda – amperometrická kvantifikace pro AOH a AME s enzymaticky modifikovanou uhlíkovou elektrodou.[9]

Cílem předkládané studie byla optimalizace metody pro stanovení třech *alternariových* mykotoxinů (alternariolu, alternariol monomethyl etheru a altenuenu) ve pšenici spočívající v izolaci analytů ze vzorku, přečištění extraktu a následném stanovení vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s fluorescenční detekcí (HPLC/FLD) (Tab I).

Tab. I: Podmínky kapalinové chromatografie (HPLC/FLD)

Mobilní fáze *methanol:voda*	*A – methanol, B – voda* 0 min – 40% A; 2 min – 40% A; 12 min – 100% A; 20 min – 100% A
Průtok	1 ml/min
Kolona	RP-C_{18} (s předkolonou C_{18}), velikost částic 5 μm
Teplota kolony	30 °C

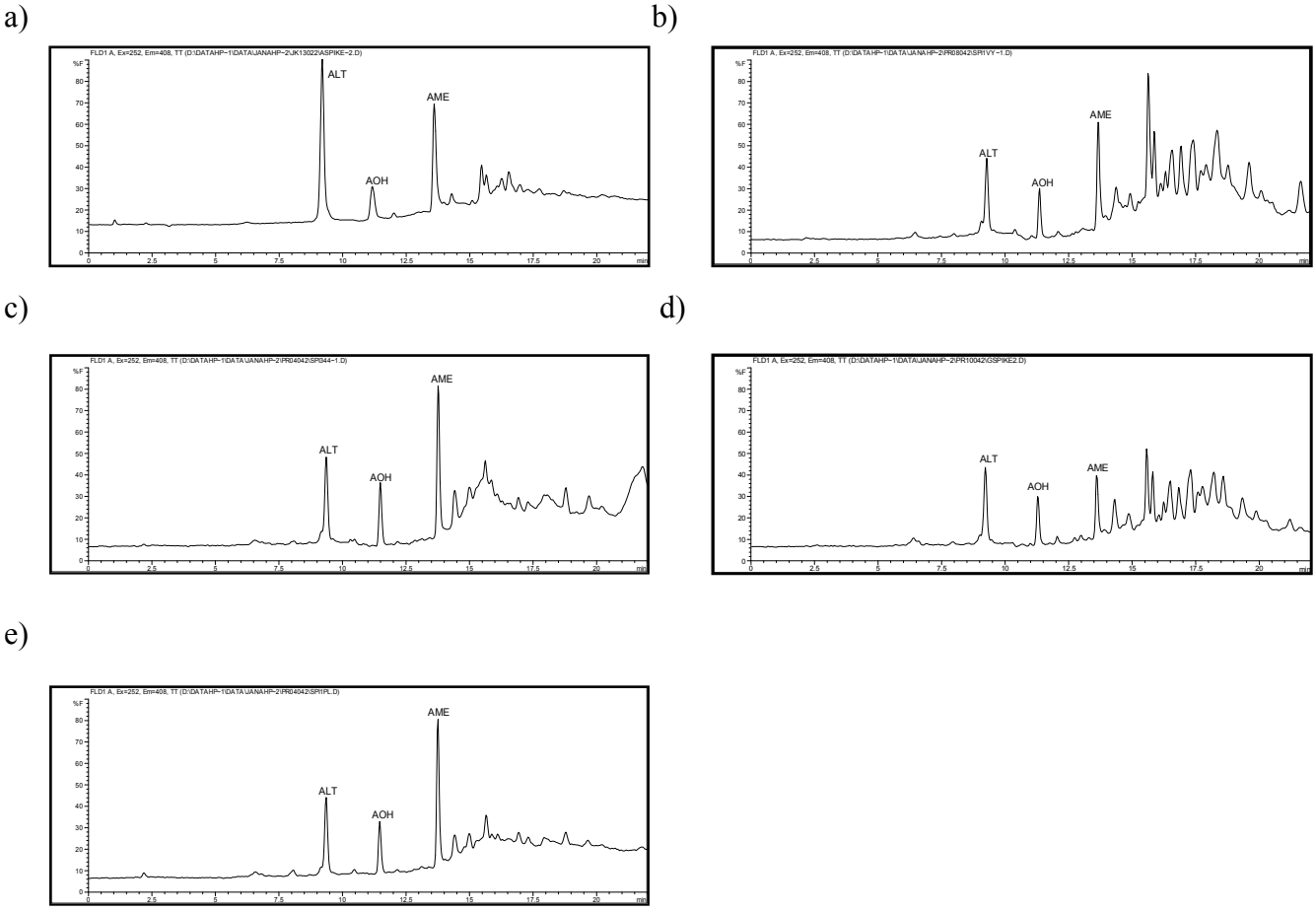
Byla otestována extrakce dvěma různými rozpouštědly (methanol a ethylacetát). Jako vhodnější extrakční činidlo pro izolaci sledovaných analytů ze vzorku mleté pšenice se jevil methanol (výtěžnost jednotlivých analytů byla pro ALT 70,8% resp. 10,1%, pro AOH 83,7% resp. 12,7% a pro AME 98,4% resp. 27,6% při extrakci methanolem, resp. ethylacetátem).

Pro přečištění extraktu byly otestovány dva postupy reextrakce (vytřepání methanolového extraktu do dichlormethanu a vytřepání ethylacetátového roztoku s vodným roztokem hydrogenuhličinanu sodného) a 3 systémy gelové permeační chromatografie (GPC)(Tab. II)

Tab. II: Používané systémy gelové permeační chromatografie

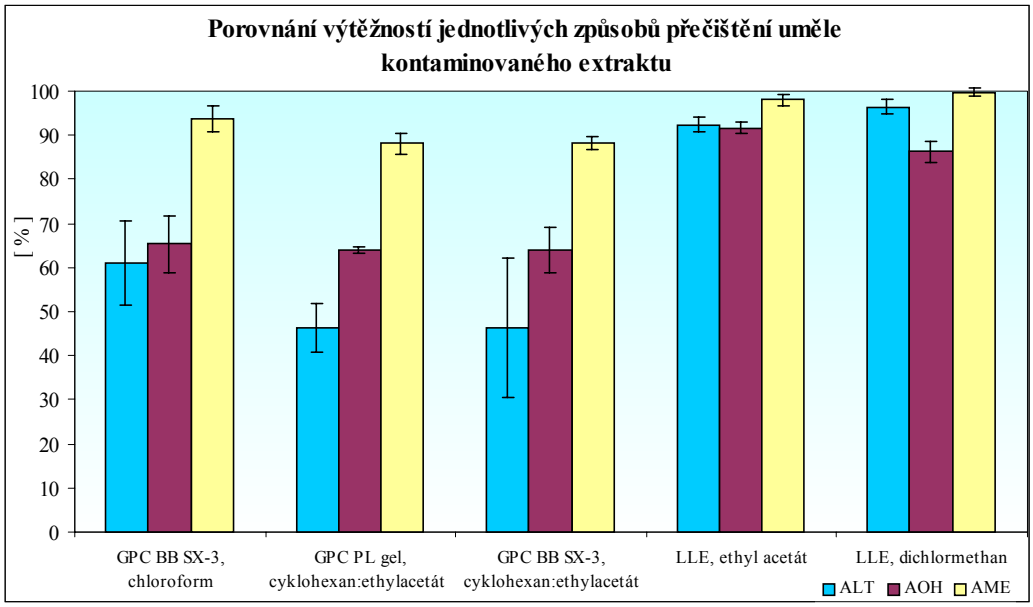
GPC kolona	Mobilní fáze (v/v)	průtok
Bio-Beads S-X3	cyklohexan:ethylacetát (1:1, v/v)	0,6 ml/min
Bio-Beads S-X3	Chloroform	0,6 ml/min
PL gel	cyklohexan:ethylacetát (1:1, v/v)	1 ml/min

Při porovnání čistících kroků a to jak na principu LLE i GPC se z hlediska přečištění jako účinnější jeví GPC metoda a to v systému PL gel-cyklohexan:ethylacetát (Obr. 2). Ovšem z hlediska výtěžnosti (Obr. 3) se jeví jako účinnější metoda reextrakce kapalina-kapalinou. Z tohoto důvodu byl otestován další konečný postup, kombinující vytřepávání ethylacetátového roztoku s vodným roztokem $NaHCO_3$ a GPC v systému PL gel s mobilní fází cyklohexan:ethylacetát (1:1, v/v). Spojením těchto dvou čistících kroků bylo docíleno dostatečného přečištění i uspokojivé výtěžnosti (88,3% pro ALT, 83,4 % pro AOH a 81,7% pro AME) sledovaných alternariových mykotoxinů při vyšetření vzorku pšenice.



Obr. 2: Chromatogramy (HPLC/FLD) – porovnání přečištění uměle kontaminovaného extraktu, nástřik ekvivalentní:

a) reextrakce dichlormethanem, [0,1 mg ALT, AOH, AME/kg],
b) reextrakce $NaHCO_3$, [0,05 mg ALT a 0,1 mg AOH, AME/kg],
c) GPC-BioBeads SX-3, cyklohexan:ethylacetát (1:1, v/v), [0,05 mg ALT a 0,1 mg AOH, AME/kg],
d) GPC-BioBeads SX-3, chloroform, [0,05 mg ALT, AME/kg a 0,1 mg AOH/kg],
e) GPC-PL gel, cyklohexan:ethylacetát (1:1, v/v), [0,05 mg ALT a 0,1 mg AOH, AME/kg].



Obr. 3: Porovnání výtěžností testovaných technik na principu LLE a GPC na uměle kontaminovaném pšeničném extraktu (0,1mg jednotlivých analytů/kg)

Metoda bude dále validována i pro použití na další typy matric.

Tato studie byla realizována v rámci projektu MŠMT v návaznosti na projekt COST Action 835 Agriculturally Important Toxigenic Fungi.

Reference

1. Stinson E. E., Osman S. F., Heisler E. G., Siciliano J., Bills D.D., Mycotoxin production in whole tomatos, apples, oranges and lemons, *J. Agric. Food Chem.*, 29, 790, 1981.
2. Watson D. H., An assessment of food contamination by toxic products of Alternaria, *J. of Food Protection,* 47(6), 485, 1984.
3. Weidenbörner M. , *Encyklopedia of Food Mycotoxines*, 2001
4. Robiglio A. L., Lopez S. E., Mycotoxin production by Alternaria alternata strains isolated from delicious apples in Argentina, *Int. J. of Food Microbiol.*, 24, 413, 1995.
5. Feng-qin Li, Yoshizava T., Alternaria mycotoxines in weathered wheat from China, *J. Agric. Food. Chem.*, 48, 2920, 2000.
6. Matysik G., Giryn H., Gradient thin-layer chromatography and densitometry determination of Alternaria mycotoxines, *Chromatographia*, 42, (9/10), 555, 1996.
7. Palmisano F., Zambonin P. G., Visconti A., Bottalico A., Determination of Alternaria mycotoxines in foodstuff by gradient elution liquid chromatography with electrochemical detection, *Chromatographia*, 27(9/10), 425, 1989.
8. Scott P. M., Weber D., Kanhere S. R., Gas chromatography-mass spectrometry of Alternaria mycotoxins, *J. of Chromatography A*, 765, 255, 1997.
9. Morressi M. B., Zon A., Fernandez H., Rivas G., Solis V., Amperometric quantification of Alternaria mycotoxins with a mushroom tyrosinase modified carbon paste electrode, *Electrochemistry Communications*, 1, 472, 1999.

TOXICKÉ PRVKY V NÁPOJÍCH

Fišera M., Drexlerová M., Gregor T.
Ústav chemie potravin a biotechnologií, Fakulta chemická VUT Brno,
Purkyňova 118, 612 00 Brno

Abstrakt

Jedním z ukazatelů hygienicko-toxikologické jakosti potravin je obsah toxických minerálních látek. K nejvýznamnějším toxickým prvkům náleží olovo (Pb), kadmium (Cd), rtuť (Hg) a arsen (As). Ve vyšších koncentracích mohou toxické účinky vykazovat také esenciální prvky, například minoritní prvky železo (Fe) a zinek (Zn) nebo stopové prvky cín (Sn), chrom (Cr), kobalt (Co), měď (Cu), molybden (Mo), nikl (Ni), selen (Se), vanad (V) a prvky neesenciální, například hliník (Al), bor (B) nebo baryum (Ba). V současné době je pozornost soustřeďována na vysoce toxické prvky, zvláště na berylium (Be) a thallium (Tl).
Jako kontaminanty životního prostředí, a tedy také kontaminanty potravin, se vyskytují i radioaktivní izotopy některých prvků (^{137}Cs, ^{90}Sr, ^{60}Co).

Nejvyšší přípustná množství (NPM), přípustná množství (PM) nebo speciální množství (SM) u potravin jsou v ČR stanovena pro toxické prvky olovo, kadmium, rtuť, arsen a také pro cín, hliník, chrom, měď, nikl, zinek a železo. Pro jmenovitě uvedené potraviny platí stanovená limitní hodnota, pro potraviny, které nejsou uvedeny jmenovitě nebo nejsou zařaditelné do legislativně uvedené skupiny potravin platí obecně hodnota pro potraviny skupiny A nebo B. Do skupiny potravin A se řadí dětská a kojenecká výživa a základní potraviny (mléko, maso, mouka, chléb, pečivo, rýže, zelenina, brambory, nealkoholické nápoje a další potraviny). Do skupiny B náleží například sýry a další mléčné výrobky, ryby, droby, tuky, celozrnná mouka, luštěniny, trvanlivé a cukrářské pečivo, ovoce a ovocné výrobky, z nápojů sirupy, vína a lihoviny.
Na stanovení zastoupení jednotlivých elementů v různých druzích nápojů byly použity metody atomové spektrometrie, především optická atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v axiálním uspořádání (ICP-OES/AP) a na velmi nízká zastoupení byla použita atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS).

Použité metody

Stanovení jednotlivých prvků bylo provedeno pro vyšší zastoupení prků metou optické atomové emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) a pro velmi nízká zastoupení prvků metodou atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS). Parametry obou metod jsou shrnuty v následujících přehledech:

Atomový emisní spektrometr s ICP - model IRIS/AP od firmy Thermo Jarell Ash (USA):
Echelle optika 0,381 m
mřížka: 62 čar/mm
termostatovaný polychromátor (37 °C)
proplachování argonem (pro měření v UV oblasti spektra)
rozlišení < 0,01 nm v oblasti 200 nm
kalibrace vlnové délky na spektrum rtuťové výbojky
plazma: příkon 750 – 1750 W
frekvence generátoru 27,12 MHz
stabilita intenzity 0,05 %
kompenzace matrice
axiálně umístěný plazmový nosič (AP)
stopový Burgnerův zmlžovač (Babingtonův typ)

dvourozměrný polovodičový detektor CID: 512 x 512 fotocitlivých míst (pixelů)
aktivní plocha: 14 x 14 mm
pracovní teplota: -80 °C
rychlost čtení: 33 μs/pixel
spojitá simultánní registrace spektra v rozsahu 170 – 900 nm
simultánní měření korekce pozadí
možnost dodatečného zpracování uložených informací o spektru

Atomový absorpční spektrometr SOLAAR M firmy UNICAM:
atomizátor: grafitový elektrotermický podle Massmanna
výbojky s dutou katodou pro jednotlivé prvky
korektor nespecifického pozadí na principu deuteriové výbojky a Zeemanova efektu
automatický dávkovač FS 95 plus
grafitová pec GF 95
zabudovaná kamera ke sledování dějů v grafitové kyvetě (GFTV)

Hodnocení naměřených výsledků obecně v nápojích souvisí s limitními parametry udávanými ve vyhlášce č.298/97 sb., zákona č.110/97 sb. o potravinách a tabákových výrobcích.

Potravina	NPM nebo PM ([a]) prvku v mg/kg									
Prvek	As	Sn	Al	Cr	Cd	Cu	Ni	Pb	Hg	Zn
nealkoholické nápoje	0,1		5,0		0,05	3,0		0,02	0,003	5,0[a]
pivo	0,2		5,0		0,01	5,0		0,05[a]		
obecně nápoje A	0,5[a]	100,0[a]		0,1[a]		20,0[a]	1,0[a]			
obecně nápoje B	3,0[a]	200,0[a]		1,0[a]		20,0[a]	6,0[a]			

V balených vodách (a tedy také minerálních) se tyto limity řídí „Požadavky na zdravotní nezávadnost balených vod a způsobu jejich úpravy“ – Vyhláška č. 292/1997 Sbírky zákonů, kde jsou dále specifikována i přísnější kritéria pro kojenecké a stolní vody.
V následujícím výseku tabulky jsou uvedeny limity pro většinu toxických prvků a látek.

B. Fyzikální a chemické požadavky

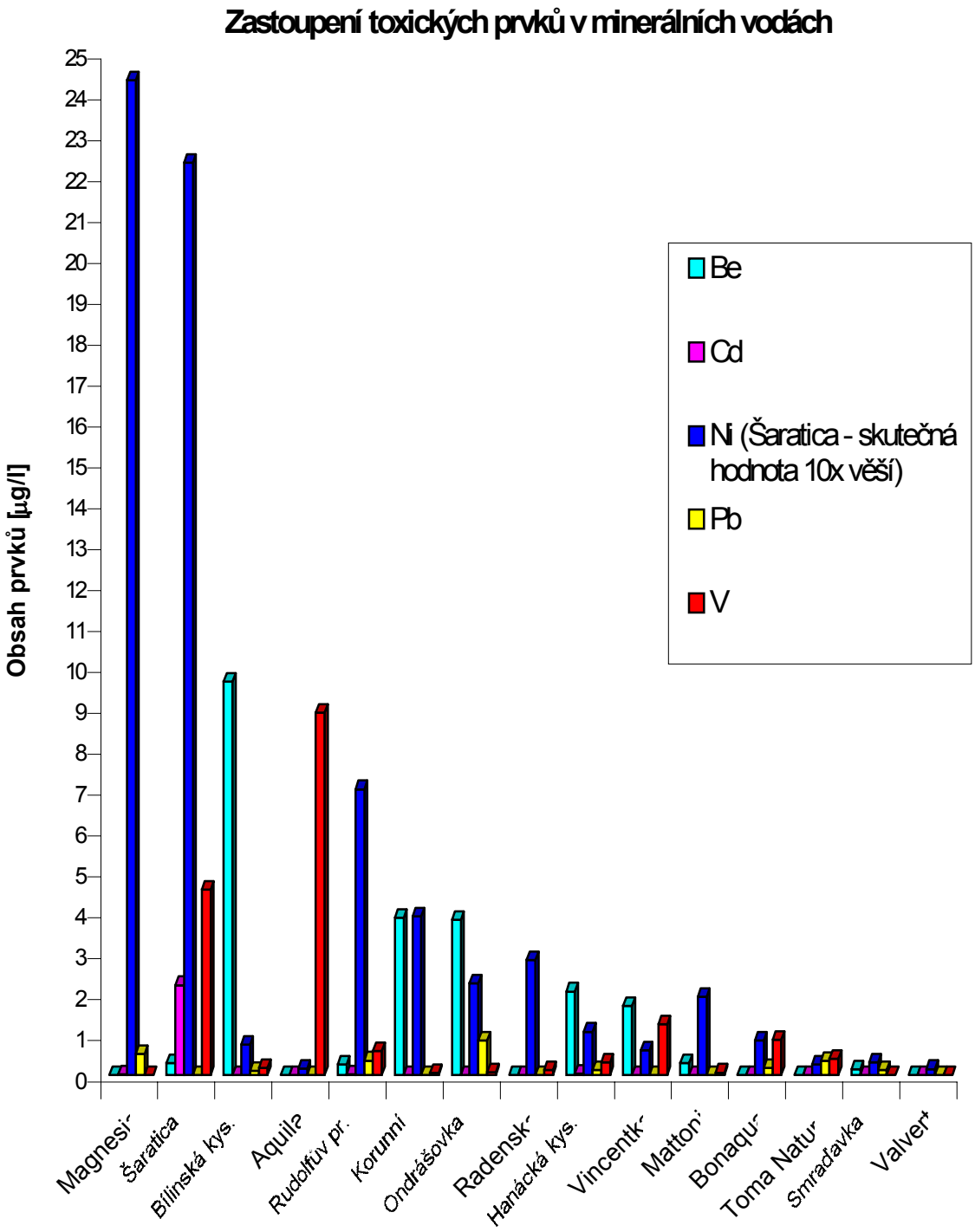
a) Zdravotně významné anorganické látky:

č.	ukazatel	symbol	jednotka	limit	typ limitu	ostatní podmínky % (1)
7.	antimon	Sb	mg/l	0,005	NPH	10
8.	arsen	As	mg/l	0,05	NPH	10
9.	baryum	Ba	mg/l	1,0	NPH	10
10.	berylium	Be	mg/l	0,001 0,005	 NPH	10
11.	boritany	(jako B)	mg/l	5	NPH	10
12.	chrom	Cr	mg/l	0,05	NPH	10
13.	kadmium	Cd	mg/l	0,003	NPH	10
14.	měď	Cu	mg/l	1,0	NPH	10
15.	nikl	Ni	mg/l	0,02	NPH	10
16.	olovo	Pb	mg/l	0,01	NPH	10
17.	rtuť	Hg	mg/l	0,001	NPH	10
18.	selen	Se	mg/l	0,05	NPH	10
19.	dusičnany	NO_{3-}	mg/l	50	NPH	10
20.	dusitany	$N0^{-}_{2}$	mg/l	0,02 0,1	 NPH	10
21.	fluoridy	F^{-}	mg/l		NPH	10
22.	kyanidy	CN^{-}	mg/l	0,07	NPH	10

Závěr

Naměřené hodnoty toxických prvků v nápojích obecně potvrzují jejich značné obsahy, především v minerálních vodách (graf), kde jejich výskyt úzce souvisí hlavně s lokalizací zdroje pramene, tedy s aspekty geologickými. Zdravotní riziko přijímání určitých dávek (nadlimitních nebo na hranicích limitu) toxických prvků v minerálních vodách není detailně objasněno a pro některé prvky tylo limity nejsou stanoveny vůbec (např. V). Každodenní konzumace většího množství minerálních vod s vyššími obsahy toxických prvků může mít na organismus nepříznivé účinky.

Graf 1: Porovnání obsahů toxických prvků v minerálních vodách (metoda ETA-AAS)



VÝVOJ ANALYTICKÉ METODY PRO STANOVENÍ ALKYLFENOLŮ VE VZORCÍCH VODNÍHO EKOSYSTÉMU

Čajka T., Šetková L., Hajšlová J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Alkylfenol polyethoxyláty patří mezi skupinu celosvětově hojně používaných neionogenních detergentů. Přes 50 let se používají v mnoha průmyslových odvětvích. Jejich použití však není jen v oblasti výroby čistících prostředků, ale také při zpracování vlny, při výrobě kůže, papírů, latexových barev, pesticidů. Dále mohou být používány jako zvlhčující, změkčující a flotační prostředky [1, 2].

Alkylfenol polyethoxyláty vstupují do čističek odpadních vod, kde dochází k jejich biodegradaci na tři hlavní skupiny sloučenin: (i) alkylfenol polyethoxyláty s kratším ethoxylátovým řetězcem, (ii) alkylfenoxykarboxylové kyseliny a (iii) alkylfenoly, které jsou relativně perzistentní, lipofilní a více toxické než původní ethoxyláty [3].

VÝSLEDKY A DISKUZE

Byly vyvinuty a z velké části validovány metody pro stanovení vybraných 4-alkylfenolů (4-*terc*-butylfenol, 4-*terc*-oktylfenol, 4-*terc*-nonylfenoly – technická směs isomerů, 4-*n*-oktylfenol, 4-*n*-nonylfenol) v odpadních vodách, odpadních kalech a rybách.

Pro extrakci alkylfenolů z **kapalných matric** se osvědčila opakovaná extrakce kapalina-kapalina (LLE) za použití dichlormethanu jako extrakčního činidla. Tato metoda není časově náročná, jelikož po extrakci následuje ihned chromatografická analýza. Použití izotopově značeného vnitřního standardu D_8-4-*n*-nonylfenolu přidávaného před plynově chromatografickou analýzou koriguje variabilitu nálezů způsobených matričními efekty.

Jako vhodná extrakční metoda pro stanovení alkylfenolů v **odpadních kalech** a **rybách** se jeví extrakce sonikací za použití extrakční směsi, kterou tvoří dichlormethan/*n*-hexan (1:1, *v/v*). Tato technika poskytuje nejen přijatelnou výtěžnost, ale ve srovnání s extrakcí podle Soxhleta se vyznačuje nižšími pozaďovými hodnotami. Rovněž zde použití izotopově značeného vnitřního standardu D_8-4-*n*-nonylfenolu koriguje variabilitu nálezů způsobených matričními efekty.

V případě ryb gelová permeační chromatografie na styrendivinylbenzenovém kopolymeru BioBeads SX-3 s mobilní fází cyklohexan/ethylacetát (1:1, *v/v*) umožnila odstranění většiny lipidických koextraktů (cca 90 %). Jelikož v daném systému dokonalá separace analytů od lipidů není možná, následuje dočištění pomocí extrakce na tuhou fázi. V módu selektivního promývání (analyty jsou zachyceny na daném sorbentu a po vymytí matričních interferentů dojde k eluci cílových analytů) byla testována řada sorbentů (alumina, CN, silika gel, SAX, SDX, C_{18}) za použití ethylacetátu jako elučního činidla lipidů a methanolu jako elučního činidla alkylfenolů. V této konfiguraci dosahovalo nejvyšší účinnosti dočištění pomocí neutrální aluminové SPE kolonky.

V případě odpadních kalů byla k přečištění extraktů opět použita technika gelová permeační chromatografie na BioBeads SX-3 s mobilní fází cyklohexan/ethylacetát (1:1, *v/v*), která zde slouží pro oddělení cílových analytů od řady výšemolekulárních látek, které se při extrakci rovněž izolují, a které by pak mohly při chromatografické analýze ovlivňovat stanovení alkylfenolů (matriční efekty, zanášení analytické kolony).

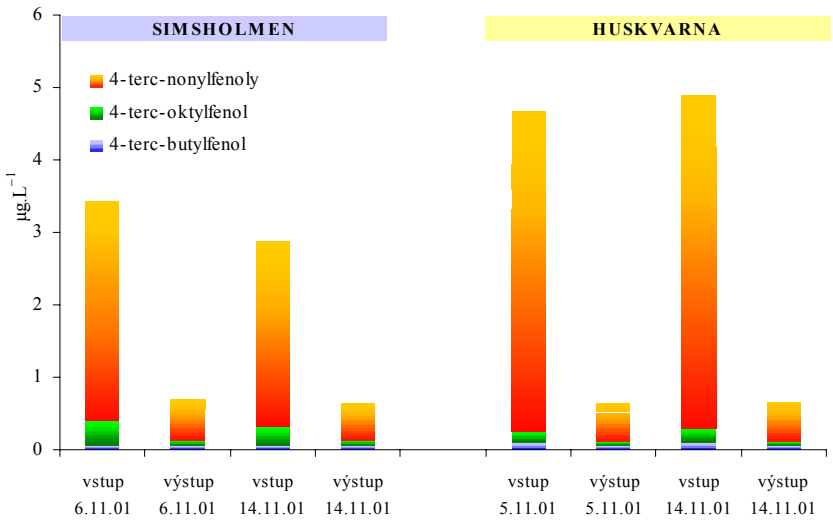
Cílové analyty neobsahují žádné hetero atomy či funkční skupiny, které by umožňovaly jejich více či méně selektivní detekci „konvenčními“ detektory využívaných jinak v reziduální analýze perzistentních organických polutantů. Aplikace hmotnostní spektrometrie je proto jediným vhodným řešením.

Byla testována vysokorozlišovací plynová chromatografie (HRGC) ve spojení s nízkorozlišovacím hmotnostně-selektivním detektorem (LRMS) s ionizací nárazem elektronů (EI) se dvěma typy hmotnostních analyzátorů (kvadrupól a iontová past).

Obrázek 1 dokumentuje výskyt alkylfenolů v odpadních vodách ze dvou švédských lokalit: Huskvarna a Simsholmen. Zatímco na vstupu do čističky odpadních vod se výskyt sumy alkylfenolů pohyboval v intervalu 2,9 – 4,8 $\mu g.L^{-1}$ a byl pozorován rozdíl mezi sledovanými lokalitami, na výstupu již tento rozdíl znát nebyl a koncentrace alkylfenolů se pohybovaly v úzkém intervalu 0,6 – 0,7 $\mu g.L^{-1}$.

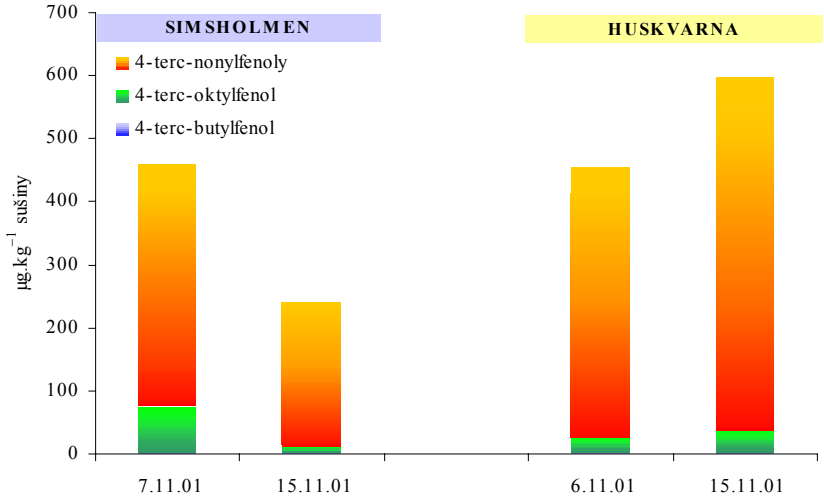
Čistírenská technologie vedla v obou případech k výrazné eliminaci obsahu alkylfenolů o více než 77 % v případě lokality Simsholmen a o 86 % v případě lokality Huskvarna.

Obdobný výskyt alkylfenolů v odpadních vodách byl zaznamenán v řadě studií. Německá studie, která si rovněž všímala poklesu obsahu alkylfenolů v odpadních vodách na vstupu a výstupu z čističek odpadních vod, uvádí snížení výskytu těchto látek o 30 – 75 % v závislosti na ročním období [4]. Obdobná studie realizovaná v Kanadě uvádí pokles obsahu 4-alkylfenolů o 49 % [5].



Obrázek 1 Výskyt vybraných alkylfenolů v odpadních vodách ve Švédsku

Výskyt alkylfenolů v odpadních kalech z čističky odpadních vod se pohyboval v intervalu 241 – 599 $\mu g.kg^{-1}$ sušiny (**Obrázek 2**). Zvýšený obsah analytů byl zaznamenán v lokalitě Huskvarna, což přímo koreluje s vyššími nálezy v odpadních vodách z této lokality.



Obrázek 2 Výskyt vybraných alkylfenolů v odpadních sedimentech ve Švédsku

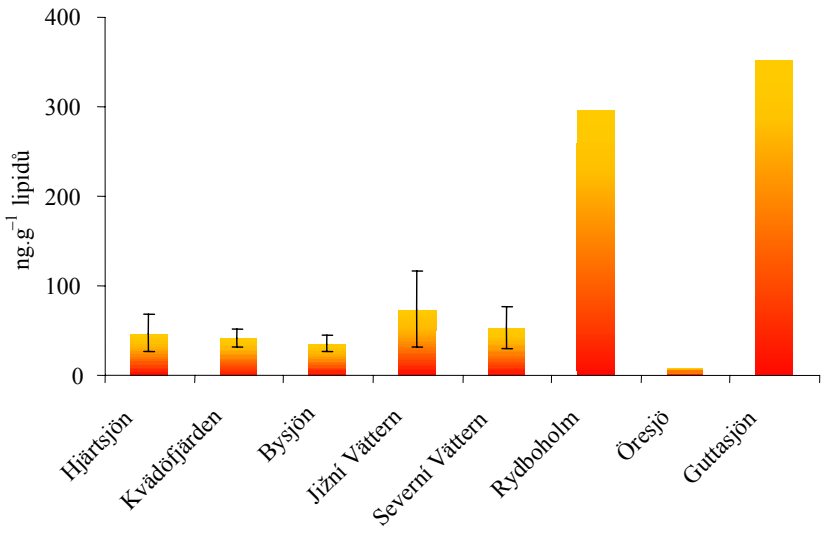
Ve vzorcích švédského vodního ekosystému byl sledován výskyt 4-*terc*-oktylfenolu v rybách (**Tabulka 1**).

Tabulka 1 Charakteristika vzorků ryb pro stanovení 4-*terc*-oktylfenolu

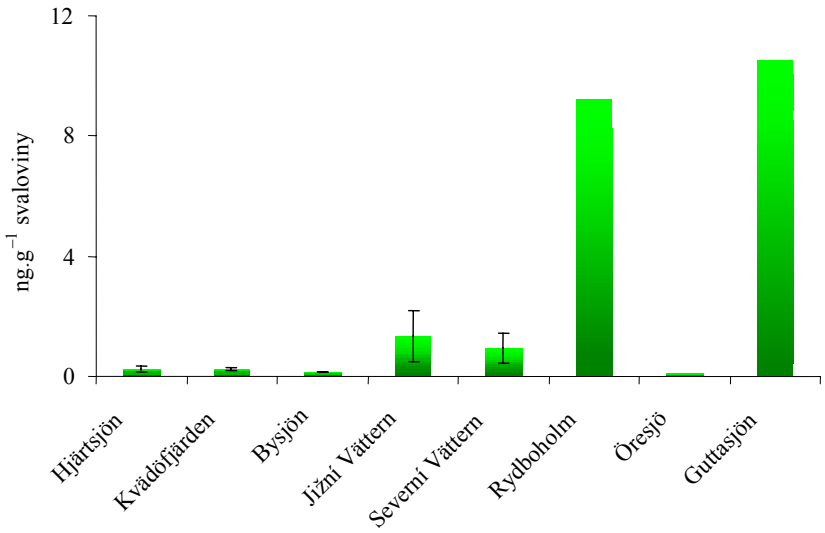
lokalita	**druh ryby**
jezero Hjärtsjön	okoun říční
Baltické moře (Kvädöfjärden)	okoun říční
jezero Bysjön	okoun říční
jezero Jižní Vättern	siven arktický, okoun říční
jezero Severní Vättern	siven arktický, okoun říční
řeka Viskan, odběrová místa: Rydboholm, Guttasjön, Öresjö	cejn velký

Obsah tohoto analytu byl nejvyšší v lokalitách Rydboholm a Guttasjön. Obě lokality se nachází poblíž řeky Viskan pod výstupy z čističek odpadních vod, které jsou zřejmě zdrojem kontaminace (**Obrázek 3, 4**). Na druhou stranu výskyt 4-*terc*-oktylfenolu v lokalitě Öresjö (rovněž okolí řeky Viskan) dosahoval pouze pozaďových hodnot.

Výskyt 4-*terc*-oktylfenolu byl u ryb ve švédských jezerech nízký ve srovnání s dříve uvedenými kontaminovanými lokalitami.



Obrázek 3 Výskyt 4-*terc*-oktylfenolu v rybách ve Švédsku (vyjádřeno na lipidy)



Obrázek 4 Výskyt 4-*terc*-oktylfenolu v rybách ve Švédsku (vyjádřeno na svalovinu)

Jako alternativa k použití kvadrupólového hmotnostního analyzátoru (HP 5973 MS, Hewlett-Packard, USA) byl testován hmotnostní analyzátor iontová past (Polaris Q, Finnigan, USA), především v módu MS/MS, kdy jsou molekuly vzorku ionizovány v iontovém zdroji a specifické (mateřské) ionty jsou izolovány a pak následně fragmentovány na ionty dceřinné. Dochází tak ke zvýšení selektivity detekce a ke snížení chemického šumu. Tento mód byl testován u 4-*terc*-butylfenolu a 4-*terc*-oktylfenolu, jelikož se jedná o látky, kde je potřeba (především při analýzách vzorků ryb) dosáhnout dobrých detekčních limitů, a rovněž jsou to látky, jejichž nejintenzivnější iont *m/z* 135 je ještě vhodný pro tuto techniku (s klesající hodnotou *m/z* klesá selektivita). Použitím tohoto módu bylo dosaženo nižších detekčních limitů oproti módu SIM. Mez stanovitelnosti (LOQ) činila pro 4-*terc*-oktylfenol 18 ng.g^{-1} lipidů v případě použití kvadrupólu (mód SIM), resp. 25 ng.g^{-1} lipidů při použití iontové pasti (mód MS/MS).

ZÁVĚR

Zavedení a validace vhodných analytických metod pro stanovení poměrně netradičních environmentálních kontaminantů – alkylfenolů otevírají prostor pro sledování zátěže vodního ekosystému těmito sloučeninami. Na úplný závěr je nutno poznamenat, že kontaminace životního prostředí alkylfenoly se zřejmě netýká pouze vod a ryb, ale dle nedávno prezentované německé studie, rovněž řady potravin [6]. Potřeba vhodných analytických metod je tak nezbytná pro sledování eventuální zátěže populace těmito kontaminanty.

REFERENCE

[1] D.T. Bennie, C.A. Sullivan, H.-B. Lee, T.E. Peart, R.J. Maguire: *Occurrence of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in natural waters of the Laurentian Great Lakes basin and the upper St. Lawrence River*, Sci. T. Environ. 193, 263-275, 1997

[2] T.L. Keith, Sh.A. Snyder, C.G. Naylor, Ch.A. Staples, Ch. Summer, K. Kannan, J.P. Giesy: *Identification and quantitation of nonylphenol ethoxylates and nonylphenol in fish tissues from Michigan*, Environ. Sci. Technol. 35, 10-13, 2001

[3] R. Renner: *European bans on surfactant trigger transatlantic debate*, Environ. Sci. Technol. 31, 316A-320A, 1997

[4] W. Körner, U. Bolz, W. Süssmuth, G. Hiller, W. Schuller, V. Hanf, H. Hagenmaier: *Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany*, Chemosphere 40, 1131-1142, 2000

[5] H.B. Lee, T.E. Peart: *Determination of 4-nonylphenol in effluents and sludge from sewage treatment plants*, Anal. Chem. 67, 1976-1980, 1995

[6] K. Günther, V. Heinke, B. Thiele, E. Kleist, H. Prast, T. Räcker: *Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food*, Environ. Sci. Technol. 36, 1676-1680, 2002

PERSISTENTNÍ ORGANOCHLOROVÉ POLUTANTY V POTRAVNÍM ŘETĚZCI VYDER - PILOTNÍ STUDIE REALIZOVANÁ V ČR V ROCE 2001

Suchan P.[1], Hajšlová J.[1], Roche K.[2], Kučerová M.[2]
1-Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
2-Český nadační fond pro vydru
e-mail: Petr.Suchan@vscht.cz

Úvod

V minulém století došlo k obrovskému rozvoji chemického průmyslu jehož výsledkem byla mimo jiné produkce řady syntetických perzistentních organochlorových sloučenin. Řada z nich (např. polychlorované bifenyly (PCB)) byla používána v různých průmyslových oborech, jiné našly uplatnění třeba v zemědělství (organochlorové pesticidy DDT, lindan (γ-hexachlorocyklohexan)). Mezi uvedené látky se řadí též hexachlorobenzen (HCB) s významnými fungicidními účinky. Ten však zároveň vzniká jako vedlejší produkt spalování organických chlorovaných uhlovodíků. Obecně se tyto sloučeniny vyznačují vysokou perzistencí v životním prostředí. Ta je dána jednak lipofilitou těchto látek charakterizovanou vysokým K_{ow} (rozdělovací koeficient n-oktanol/voda), obtížnou biodegradabilitou a vysokou chemickou stabilitou. Tyto charakteristiky jsou pak důvodem výskytu uvedených látek prakticky ve všech částech ekosystému s následnou kumulací v potravních řetězcích. Jedním z nejvíce prozkoumávaných složek ekosystému je pak vodní ekosystém, jehož biotickým reprezentantem je i vydra říční (*Lutra lutra*). Jde o celoevropský přísně chráněný živočišný druh vedený v Bernské konvenci; v České republice zařazený mezi silně ohrožené druhy zvláště chráněných živočichů. V posledních čtyřiceti letech však došlo v mnoha evropských zemích k alarmujícímu snížení, místy až vyhynutí vydří populace, což se přičítá mimo jiné vysoké kontaminaci jejich přirozeného prostředí organochlorovými xenobiotiky[1,2]. Dalšími důvody jež se podíly na snížení populace v ČR byly technické úpravy vodotečí (napřimování vodních toků, úprava a zpevňování koryt, likvidace pobřežních porostů), lov a pytláctví a nárůst autodopravy. Vydra říční patřící mezi kunovité šelmy (*Mustelidae*), kam se kromě ní zařazuje též hrabavý typ jezevce, šplhavé kuny či lasice, stojí na vrcholu vodního potravního řetězce. Výsledkem je značná kumulace environmentálních kontaminantů v jejím těle. Složení vydří potravy se mění během ročního období, přesto lze obecně říci, že hlavní složkou jsou ryby o velikosti do 20 cm. V celkovém jídelníčku pak tvoří ryby až 85%, zbytek představují především malými savci (3,9%), ptáci (8,7%), obojživelníci (1,9%), plazi (0,4%) a hmyz (0,3%). Dominantními druhy ryb jsou plotice, kapři, pstruzi, lipani, okouni, mníci či vranky. Průměrná denní potřeba potravy se pohybuje od 0,4 do 0,9 kg, v zimních měsících může překročit i 1 kg. V České republice je nejvyšší početnost a hustota vyder v oblasti jihočeských rybníků, na Šumavě a Českomoravské Vrchovině. Na Bruntálsku a Jesenicku se nachází menší skupina reintrodukovaných jedinců.

Cíle studie

Cílem této studie bylo posouzení rozsahu kontaminace vyder (svalovina a játra) perzistentními organochlorovými kontaminanty (47 kongenerů PCB včetně 7 indikátorových, vybrané organochlorové pesticidy: HCB, isomery HCH, DDT a jeho metabolity DDD, DDE, dieldrin a oktachlorostyren) a porovnání zjištěných nálezů s koncentracemi nalezenými v hlavní složce vydří potravy, tj. v rybách. Zhodnocena byla i bioakumulace zmíněných kontaminantů ve vztahu k oblasti výskytu vyder a příslušné věkové kategorii.

Experimentální část

Celkově bylo analyzováno 14 vzorků vydří svaloviny a 9 vzorků jater. Vzorky vyder pocházely z oblastí s vysokým výskytem vydry říční, okresy CB, HB, JH, J a PE (oblast jihočeských rybníků a Českomoravská Vrchovina). Obecně se jednalo o kusy uhynulé vlivem autodopravy nebo jako oběť

jiných zvířat či uhynulé z neznámých příčin. V případě ryb se jednalo o druhy tvořící dominantní podíl potravy vyder (plotice a okoun) odebraných z horní části řeky Lužnice (okres Jindřichův Hradec). Velikost analyzovaných vzorků ryb se pohybovala průměrně okolo 15 cm. Analyzovány byly směsné vzorky ryb.

Výsledky a diskuse

Relativní zastoupení jednotlivých kongenerů PCB ve vzorcích vyder (svalovina, játra) a ryb odpovídalo jejich postavení v potravním řetězci. Ve vzorcích převažovaly především výšechlorované kongenery PCB č. 138, 153, 163, 170 a 180. Vzhledem k nízké schopnosti ryb biodegradovat sledované kontaminanty bylo zastoupení nížechlorovaných kongenerů ve vzorcích ryb mnohem vyšší oproti vzorkům vyder. Koncentrace sumy PCB byly u vyder přibližně 10krát vyšší než u ryb (90,9 – 2750,3 μg/kg vydry respektive 59,0 – 79,9 μg/kg ryby), (Obr. 1,2). Při denní spotřebě 0,7 kg ryb činil odhadovaný denní příjem sumy PCB pro vydru 49 μg. Vzhledem ke schopnosti biodegradace, možnému růstovému zřeďování a dalším faktorům však vydry v sobě bioakumulují pouze asi 15% z tohoto denního příjmu. Koncentrace sumy PCB v játrech se pohybovaly v rozmezí 0,19 – 4,4 mg/kg tkáně a byly srovnatelné s výsledky zjištěnými ve vzorcích vyder analyzovaných v rámci studie ve Skotsku (0,48 – 2,05 mg/kg tkáně [3]). V žádném z analyzovaných vzorků vyder nebyla překročena hladina sumy PCB 50 mg/kg tuku, což představuje hranici ohrožující populaci vyder[3].

V případě organochlorových pesticidů měly dominantní zastoupení ve všech analyzovaných vzorcích vyder i ryb analyty p,p´-DDE a HCB (Obr. 3, 4). Hodnoty p,p´-DDE v játrech (0,04 – 4,4 mg/kg tkáně) se svým rozsahem příliš nelišily od koncentrací nalezených ve Skotsku (0,12 – 2,81 mg/kg tkáně)[3]. Vysoké hladiny dieldrinu zjištěné ve vydrách z Velké Británie, které byly považovány za jednu z příčin snížení místní vydří populace[4], nebyly v našich analyzovaných vzorcích nalezeny (průměrná koncentrace ve svalovině 1,3 μg/kg tuku).

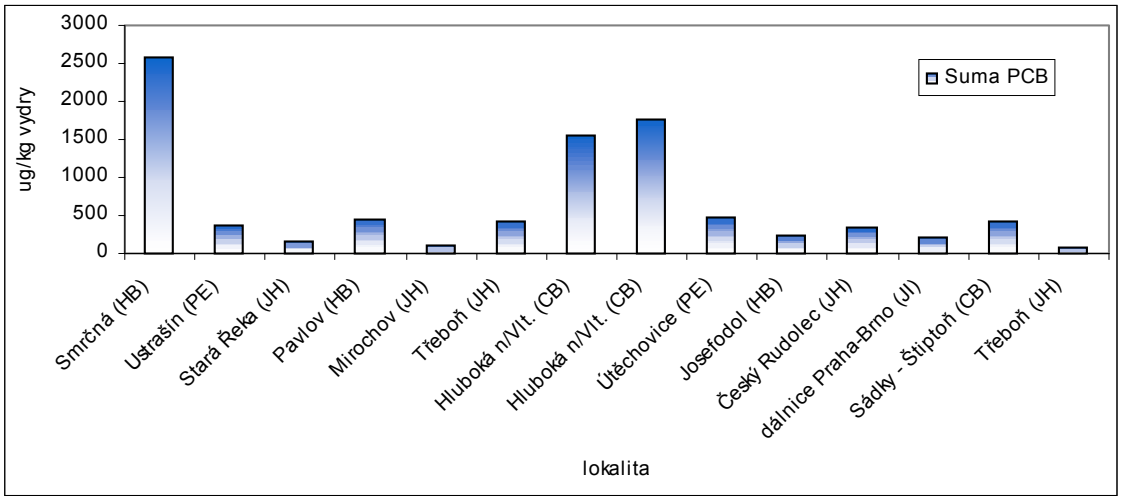
Z hlediska bioakumulace polychlorovaných bifenylů ve vydrách ve vztahu k věkové kategorii nepodal analyzovaný materiál důkazy o tom, že věk je důležitým faktorem vysvětlujícím koncentrační rozdíly mezi jednotlivými jedinci (Obr. 5). Vydry z okresů České Budějovice (CB) a Havlíčkův Brod (HB) byly relativně více kontaminované ve srovnání s vydrami z okresů Jindřichův Hradec (JH), Pelhřimov (PE) a Jihlava (JI), (Obr. 6).

Seznam literatury

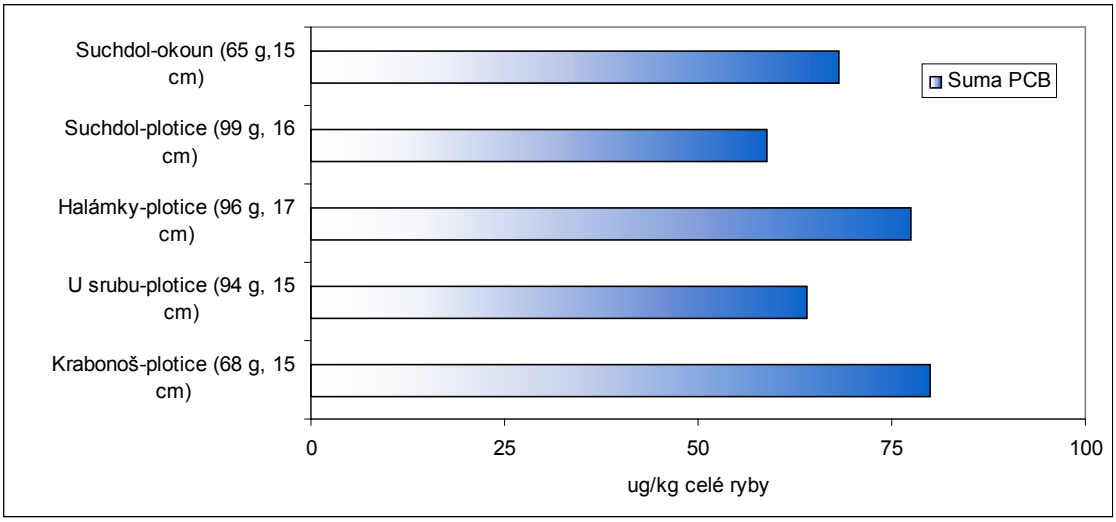
[1] C.F. Mason: Chemosphere, **36**, 1969-1971, 1998
[2] C.F. Mason W.M. O´Sullivan: Bull. Environ. Contam. Toxicol, **53**, 548-554, 1992
[3] H. Kruuk, J.W.H. Conroy: Environmental Pollution, **92** (2), 165-171, 1996
[4] A. Roos et al.: Environmentall Pollution, **111**, 457-469, 2001

Analytická část této studie byla realizována v rámci dlouhodobého záměru MSM 22330004. Odběr vzorků ryb a vyder byl zajištěn Českým nadačním fondem pro vydru.

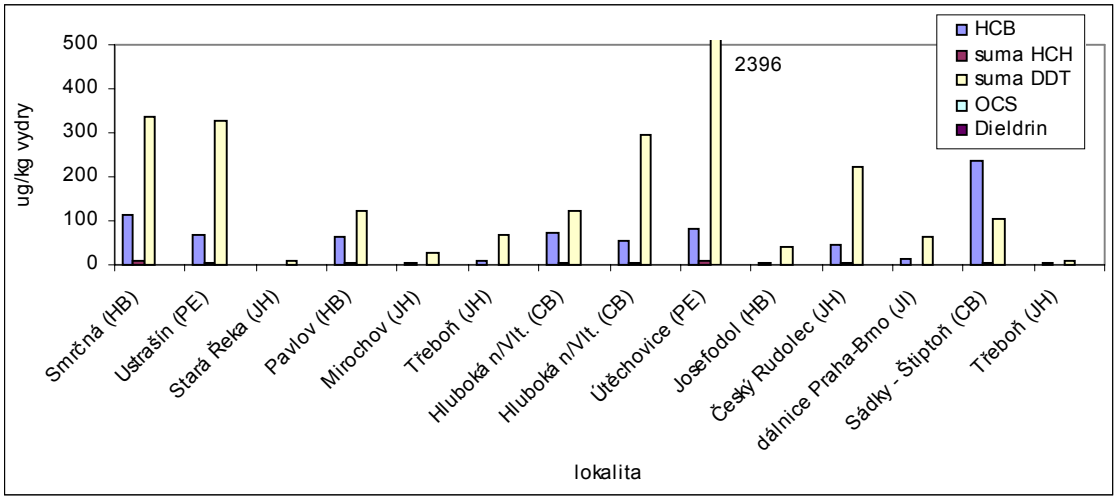
Obr. 1. *Suma PCB ve vzorcích vyder (µg/kg vydry)*



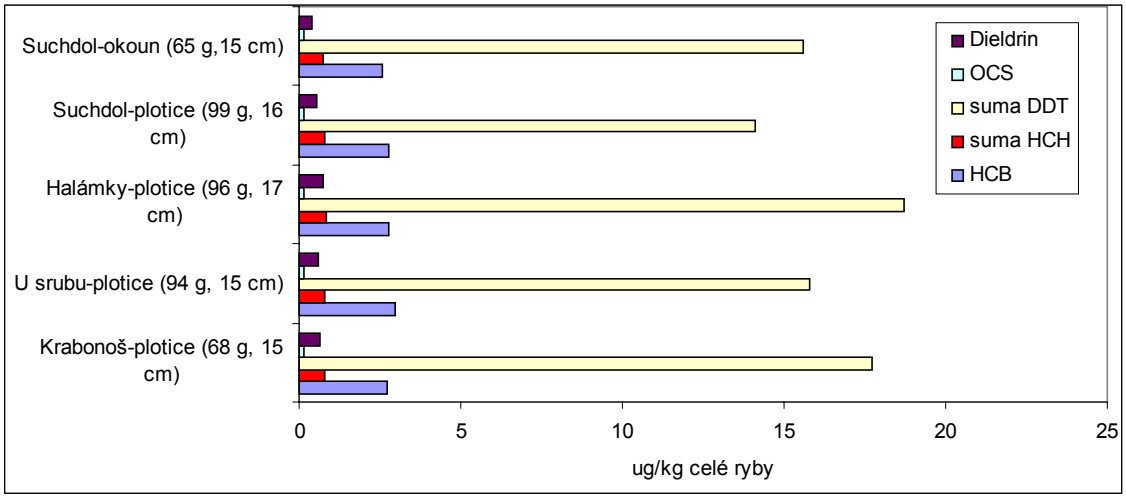
Obr. 2 . *Suma PCB ve vzorcích ryb z oblastí s vysokou populací vyder (µg/kg celé ryby)*



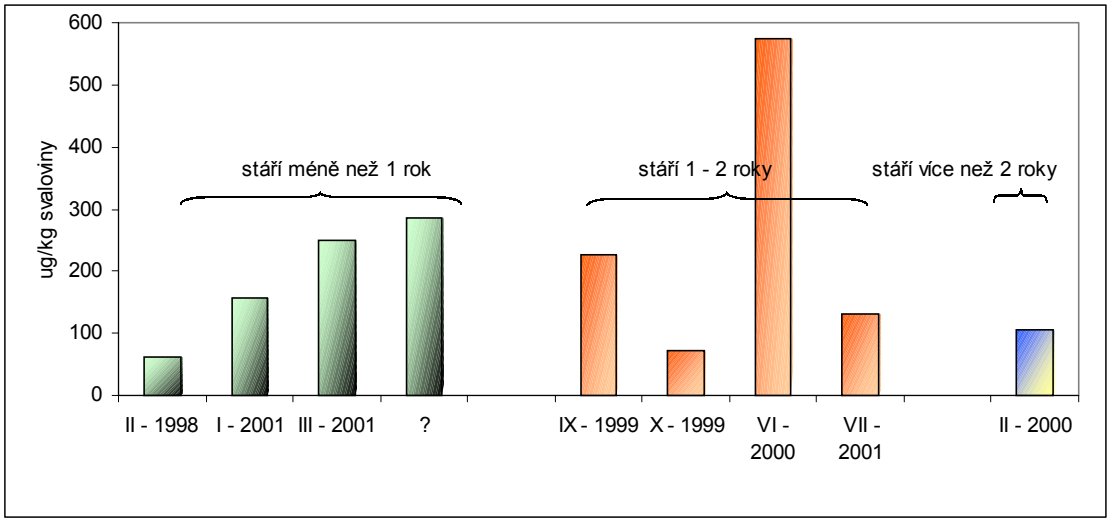
Obr. 3. *Organochlorové pesticidy ve vzorcích vyder (µg/kg vydry)*



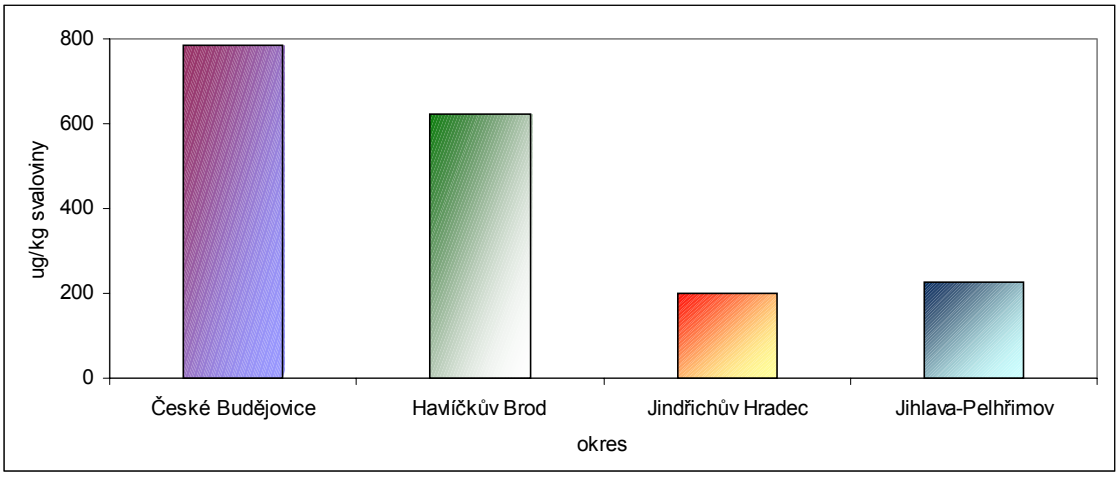
Obr. 4. *Organochlorové pesticidy ve vzorcích ryb z oblastí s hustým osídlením vyder (µg/kg celé ryby)*



Obr. 5. *Suma indikátorových kongenerů PCB ve vzorcích vyder (µg/kg svaloviny) v závislosti na věkové kategorii*



Obr. 6. *Průměrné koncentrace sumy PCB ve vydrách z různých okresů (µg/kg svaloviny)*



BROMOVANÉ FLAME RETARDANTY (BFR) V ČESKÉM VODNÍM EKOSYSTÉMU

Kazda R., Šetková L., Hajšlová J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
*e-mail: Radek. Kazda@vscht.cz

Bromované retardátory hoření (Brominated flame retardants - BFR) patří mezi látky, které nalezly široké použití v mnoha průmyslových odvětvích. Důvodem jejich použití je schopnost těchto látek zpomalovat proces hoření a snižovat riziko vznícení při nadměrném záhřevu daného materiálu. Z řady aplikací BFR lze uvést například jejich přídavek do polyurethanové pěny, polystyrenu a ostatních plastů, textilií, izolací elektrického vedení, těsnění a elektronických konektorů u spotřebičů.
Existuje celá řada BFR , přičemž mezi nejvýznamnější patří především polybromované difenylethery (PBDE), tetrabrombisfenolA (TBBPA) či hexabromcyklododekan (HBCD).
BFR mohou být použity dvojím způsobem. Hovoříme tak o retardantech reaktivních nebo aditivních. Reaktivní FR (např. TBBP – A) jsou kovalentně vázány na polymerní matrici, aditivní retardanty (např. PBDE či HBCD) jsou s daným polymerem pouze volně smíchány či v něm rozpuštěny. Z této skutečnosti je patrné, že aditivní retardanty mohou za určitých okolností migrovat do okolního prostředí a být tak příčinou kontaminace potravních řetězců.

V rámci předkládané presentace bude popsána námi vyvinutá analytická metoda pro stanovení PBDE ve vzorcích ryb. S ohledem na skutečnost, že PBDE patří mezi lipofilní látky je primárním krokem postupu izolace lipidického podílu - extrakcí podle Soxhleta. Lipidický extrakt je poté přečištěn metodou gelové permeační chromatografie (GPC), testováno bylo provedeno také přečištění adsorpční chromatografií na aluminové koloně s následným dočištěním na silikagelu. Identifikace a kvantifikace analytů je možné realizovat technikou GC/MS/EI (takto byly vyšetřeny vzorky z tůní a rybníku Regent). Vyšší citlivost lze dosáhnout technikou GC/MS/NCI pomocí které byla provedena analýza ostatních vzorků.
Validace analytického postupu proběhla na úrovni zjištění jednodenních a mezidenních opakovatelností (vyjádřeny jako směrodatná resp. relativní směrodatná odchylka).

|Ve vzorcích ryb byly sledovány následující PBDE kongenery: 28, 47, 66, 71, 75, 77, 85, 99, 100, 119, 138, 153, 154 a 183. Jednotlivé vzorky byly získány z labských tůní Libiš, Lžovice, Chválovice, Kluk a rybníka Regent v jižních Čechách. Jmenované lokality se nacházejí mimo významné průmyslové a městské aglomerace a lze je v daném kontextu považovat za pozaďové. Dále bylo provedeno vyšetření obsahu PBDE v rybách odchycených v různých lokalitách na řekách Vltava, Labe a Tichá Orlice, což jsou oblasti (zejména lokality Vltava – Klecany a Labe - Hřensko), kde byl v rámci monitoringu z nedávných let prokázán značný rozsah znečištění různými typy organických kontaminantů (PCB, „musk“ sloučeniny, organochlorové pesticidy aj.).
Analyzované soubory obsahovaly individuální vzorky svaloviny, jater, jiker, mlíčí, ledvin a gonád několika druhů ryb, které se běžně vyskytují v českých vodách:

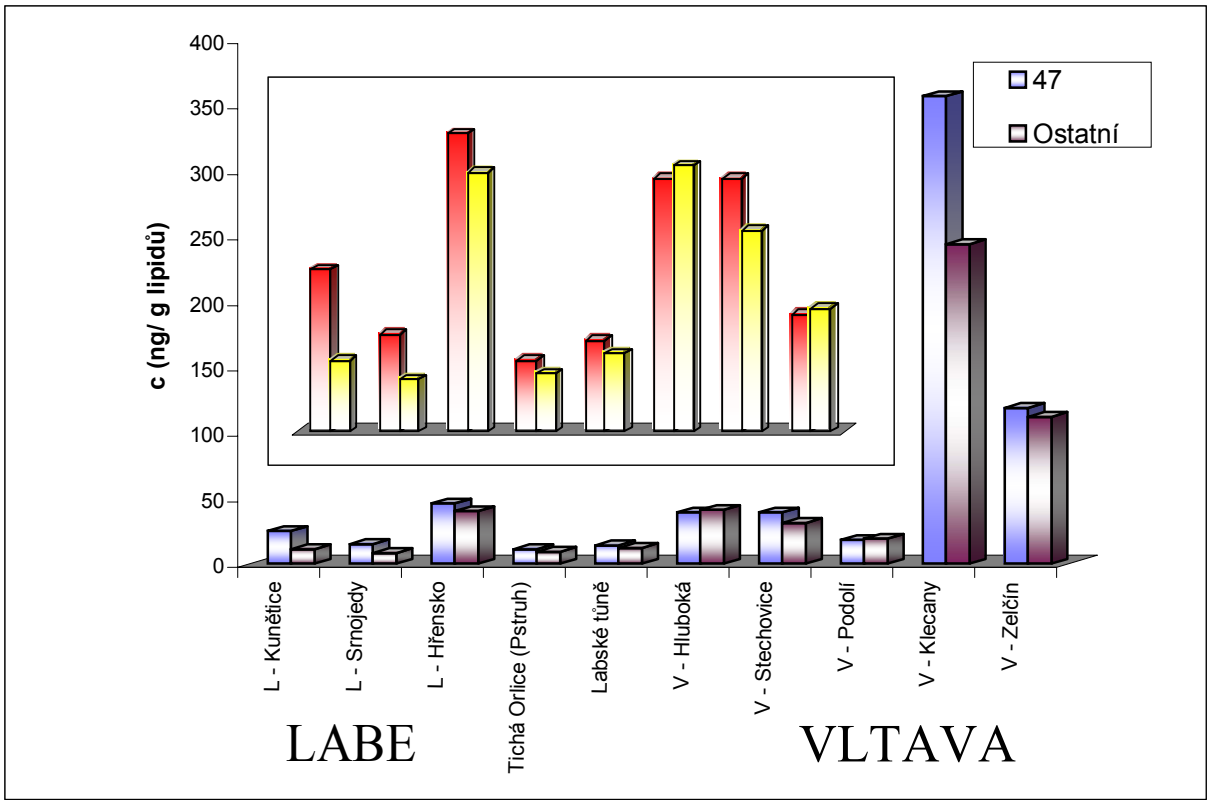
štika obecná (*Esox lucius*),
jelec tloušť (*Leuciscus cephalus*),
parma obecná (*Barbus barbus*),
cejn velký (*Abramis brama*),
okoun říční (*Perca fluviatilis*),
kapr obecný *(Cyprinus carpio*),
pstruh obecný *(Salmo trutta).*

V lokalitách **labských tůní** byly nálezy jednotlivých kongenerů dle předpokladů minimální. Dominantním kongenerem zde byl BDE 47 (5-85 ng/g lipidů), který je hlavní složkou průmyslové směsi BROMKAL – 75DE. V řadě vzorků byly nalezeny také kongenery 99, 100 a 154 (<5 ng/g lipidů).

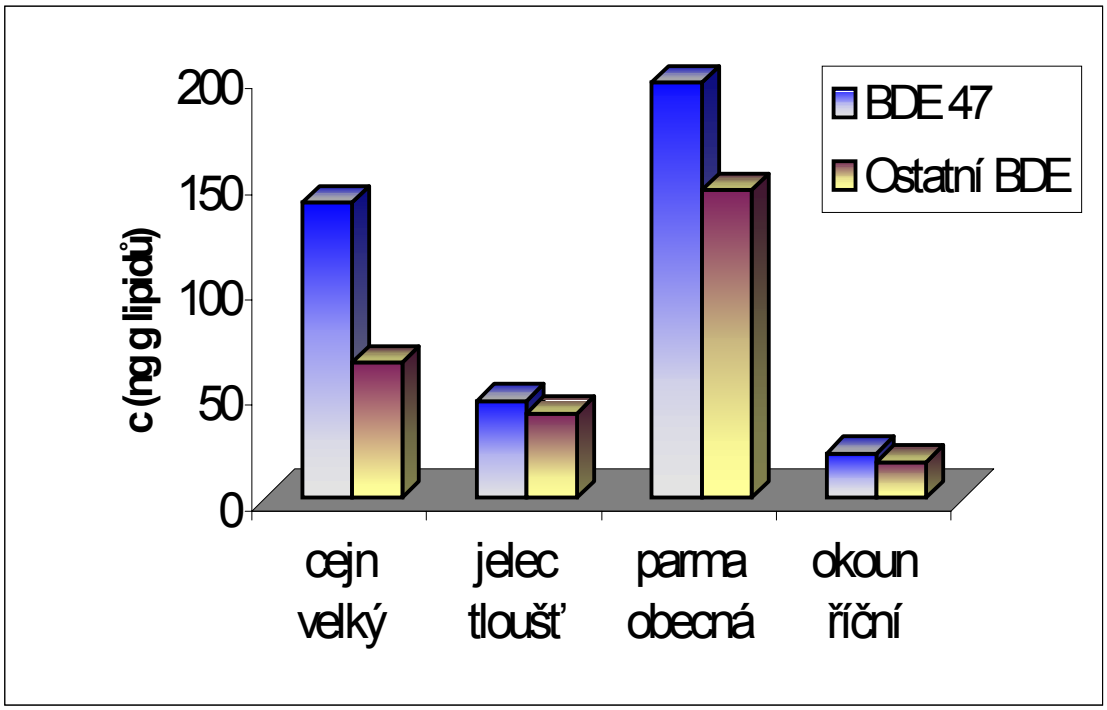
V chovném **rybníku Regent** ležely hladiny pod LOD.

Z výsledků analýz vzorků ryb odebraných z lokalit na řekách **Labe, Vltava a Tichá Orlice** je patrné , že ve většině těchto lokalit je úroveň kontaminace větší než v případě labských tůní (viz obr. 1). Největší nálezy byly zjištěny zejména v oblasti Vltava- Klecany, což se dalo očekávat, neboť je to oblast v blízkosti průmyslové aglomerace Praha , kde byly již v minulosti detekovány výrazně vyšší množství organických kontaminantů než-li v jiných sledovaných oblastech.
Pokud jde o srovnání rozsahu bioakumulace jednotlivých druhů ryb (v rámci jedné lokality) z dosažených výsledků vyplývá, že větší úroveň kontaminace (v přepočtu na 1 g tuku) se vyskytuje u parmy obecné a cejna velkého, zatímco u jelce tlouště a okouna říčního je výrazněji nižší (viz obr. 2).
Velmi zajímavé je také porovnání zastoupení jednotlivých kongenerů v různých lokalitách. Zatímco například v oblasti Vltava - Klecany je rozložení následující: BDE 47 = 61 %, BDE 100 = 15 %, BDE 99 = 88 % a BDE 153 = 7 %, tak v Hřensku na řece Labi je kongener BDE 47 zastoupen pouze 49 % a naopak BDE 153 přispívá 11 %.
Kromě lokalit jsme se pokusili porovnat zastoupení resp. spektrum sledovaných PBDE v odlišných druzích ryb z jedné oblasti (Labe - Hřensko). Pro srovnání například BDE 47 je u cejna velkého přítomen téměř 64 %, ten samý kongener tvoří u jelce tlouště z téže lokality pouze 48 %. Naopak BDE 153 je zastoupen 10 % u jelce a pouze 2,3 % u cejna (viz obr. 3).
Tyto poznatky naznačují možné různé potenciální zdroje kontaminace v různých oblastech a v případě odlišného zastoupení u ryb i možnou diverzitu v bioakumulaci či biotransformaci těchto látek. Pro ověření těchto skutečností je ovšem třeba provést v budoucnosti větší množství experimentálních pokusů.

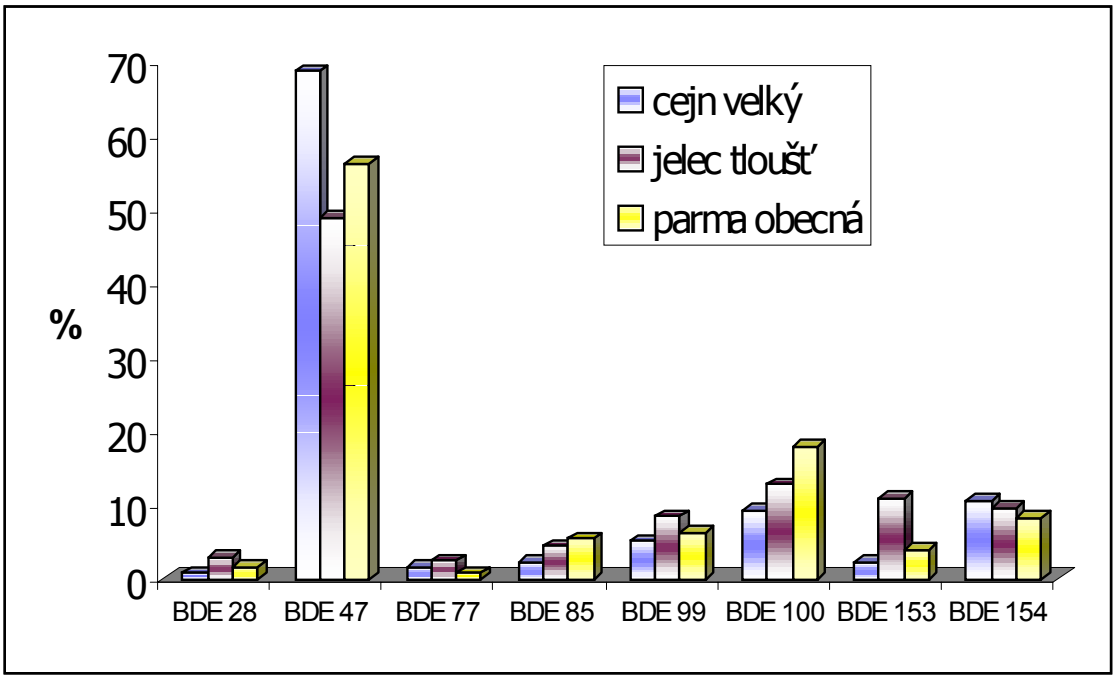
Obr 1: Srovnání úrovně kontaminace jednotlivých lokalit (hladiny PBDE ve svalovině)



Obr 2: Srovnání nálezů PBDE v odlišných druzích ryb (lokalita Labe - Hřensko), cejn - 1,7 % lipidů, jelec - 2,3 %, parma - 3 % a okoun 0,8 %.



Obr 3: Srovnání zastoupení jednotlivých kongenerů v různých druzích ryb (Labe - Hřensko)



MOŽNOSTI VZNIKU REZISTENCIE MIKROORGANIZMOV K SANITAČNÝM PROSTRIEDKOM

Ružičková A., Majeríková I., Jányi I., Petríková J.
Výskumný ústav potravinársky, Bratislava, pracovisko Biocentrum Modra, Kostolná 7, 900 01 Modra

V súčasnej dobe sa neustále zvyšujú požiadavky na akosť potravinárskych výrobkov. Konzervačné a pasterizačné postupy v potravinárskych technológiách sú čím ďalej, tým viac obmedzované požiadavkami na potravinársky výrobok vyrobený prírodným spôsobom, označovaný ako „natural products“.
Berúc do úvahy túto novú skutočnosť, charakter surovín a samotné technológie spracovania, možno konštatovať, že riziko mikrobiálnej kontaminácie je mimoriadne vysoké. Základným predpokladom úspešnosti sanitačných postupov je správna voľba a aplikácia vhodných čistiacich a dezinfekčných prostriedkov a optimalizácia faktorov, ktoré principiálne výsledný efekt ovplyvňujú - najmä koncentrácia prípravku, teplota a čas.
V oblasti sanitácie sa nevenuje dostatočná pozornosť problému rezistencie mikroorganizmov na dezinfekčné látky. Až v posledných rokoch sa v odbornej literatúre uvádza adaptácia mikroorganizmov k niektorým typom dezinfekčných prostriedkov. Tak napríklad sa zistila rezistencia mikrooganizmov z rodu Escherichia, Pseudomonas, Proteus, Salmonella na Ajatín, Septonex, Chlórhexidín, Cetrimit. Zo štúdie rezistencie mikroorganizmov je zrejmé, že je významná najmä rezistencia sekundárna, ktorá vzniká adaptáciou mikroorganizmov na používané dezinfekčné prostriedky.
Jednou z viacerých príčin vzniku rezistencie môže byť aj nedostatočne uplatňovaný sanitačný postup a dlhodobé používanie jedného druhu dezinfekčného prostriedku, napr. kvartérne amóniové zlúčeniny (ďalej len KAZ), ktorých účinky na mikroorganizmy sme sledovali na našom pracovisku.
V oblasti štúdia rezistencie mikroorganizmov k dezinfekčným prostriedkom sme urobili výber dezinfekčného prostriedku (ďalej DP) a mikroorganizmov, výber, odskúšanie a zavedenie vhodných metód hodnotenia účinnosti DP, ako aj adaptácie mikoorganizmov na DP v subletálnych dávkach.
Použité dezinfekčné prostriedky, ako aj ich účinné zložky a výrobca sú uvedené v tabuľke 1.

Tab. 1. Dezinfekčné prostriedky

	Obchodný názov	Účinná zložka	Výrobca
1.	ANTIBACTERIC-P	KAZ (kamín)	Tatrachema v.d., Trnava
2.	AJATÍN	80 % KAZ	Slovakofarma, Hlohovec
3.	SEPTONEX BROMID	KAZ	Slovakofarma, Hlohovec
4.	SAVO SUPER	chlórnan sodný	Bochemie, Bohumín
5.	DESANA	chlórnan sodný	Tatrachema v.d., Trnava
6.	PERSTERIL	32-36 % kys. peroctová	Chemické závody, Sokolov
7.	SANOSIL SUPER	25 % striebro, peroxid vodíka	Sanosil Trading Ltd., Švajčiarsko

Koncentračný rozsah DP sme volili podľa účinných koncentrácií, ktoré sú odporúčané výrobcom a podľa potreby vzhľadom na získané výsledky.

Mikroorganizmy

Použili sme 4 kmene (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* a *Citrobacter* sp.), ktoré sú zástupcami G^- baktérií a patria medzi bežné kontaminanty potravinárskych prevádzok, z ktorých boli vlastne aj izolované.
K ich výberu nás viedla aj skutočnosť, že u zástupcov čeľade Enterobacteriacae, ako aj u pseudomonád, je možnosť vzniku sekundárnej rezistencie na rôzne antimikrobiálne látky veľmi častým javom.
U prvých troch G^- baktérií sme zistili plazmidovú DNA, čím vzniká možnosť transferu plazmidom kódovanej rezistencie na DP, čo je tiež častým javom tejto skupiny baktérií.

ZÁVER

Cieľom práce bolo zistiť baktericídnu účinnosť dezinfekčného prostriedku Antibacteric-P pre vybrané kmene baktérií, bežné kontaminanty potravinárskych prevádzok, u ktorých sa predpokladá vyššia primárna rezistencia, ako u štandardných modelových kmeňov, ktoré sa používajú na hodnotenie baktericídnej účinnosti dezinfekčných prostriedkov.
Ďalej sme sledovali možnosť vzniku sekundárnej rezistencie u týchto mikroorganizmov pasážovaním v subletálnych koncentráciach Antibacteric-P a nakoniec sme hodnotili účinok iných dezinfekčných prostriedkov na pôvodné kmene a na kmene so získanou rezistenciou na Antibacteric-P.
Zistili sme:
- baktericídny účinok Antibacteric-P pre kmene *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Citrobacter sp.* pri testovaných teplotách 10, 24 a 37 ^{0}C nepresahuje limitnú hodnotu koncentrácie, ktorú odporúča výrobca pri aplikácii tohto dezinfekčného prostriedku v potravinárskom priemysle,
- všetky testované kmene G^- baktérií sa stali výrazne rezistentné na Antibacteric-P pri teplotách 24 a 37 ^{0}C,
- pri teplote 24 ^{0}C je adaptácia mikroorganizmov na Antibacteric-P výrazná už po 2-násobnom pasážovaní kmeňov v médiu so stúpajúcou koncentráciou dezinfekčného prostriedku, kedy *Pseudomonas aeruginosa a Proteus mirabilis* rastú v 16-násobne a 32-násobne vyššej koncentrácii ako je limitná koncentrácia Antibacteric-P odporúčaná výrobcom. Pasážovaním kmeňov pri 37 ^{0}C k výraznej zmene dochádza po 3-násobnom pasážovaní len u kmeňa *Proteus mirabilis,*
- získané vysoko rezistentné kmene *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli a Proteus mirabilis* sú schopné rásť až v 35 %-nom roztoku Antibacteric-P v kultivačnom médiu už po 6-násobnom pasážovaní pri teplote 24 ^{0}C, kmeň *Proteus mirabilis* dokonca už po 5-násobnom pasážovaní,
- sekundárna rezistencia G^- baktérií na Antibacteric-P je reverzibilná,
- u kmeňov baktérií so získanou rezistenciou na Antibacteric-P sme nezistili krížovú rezistenciu na testované dezinfekčné prostriedky na báze KAZ (Ajatín a Septonex),
- overované dezinfekčné prostriedky na báze aktívneho chlóru, peroxidu vodíka a striebra (Savo Super, Desana, Persteril a Sanosil Super) na kmeňoch pôvodných a kmeňoch so získanou rezistenciou na Antibacteric-P potvrdili ich dobrý mikrobicídny účinok, a tým aj ich vhodnosť na dlhodobé používanie v dezinfekčnom procese a na striedanie s prostriedkami na báze KAZ.
Získanými výsledkami sme potvrdili dobrý baktericídny účinok dezinfekčného prostriedku Antibacteric-P, ale vzhľadom na rýchly vznik sekundárnej rezistencie reverzibilného typu u všetkých testovaných kmeňov baktérií, Antibacteric-P je vhodný len na krátkodobú aplikáciu v dezinfekčnom procese. Minimálne po ukončení tretieho dezinfekčného cyklu je nutné nahradiť Antibacteric-P dezinfekčným prostriedkom s vysokým mikrobicídnym účinkom na báze inej ako sú KAZ, nakoľko pravdepodobnosť vzniku krížovej rezistencie na KAZ je dosť vysoká a môže sa prejaviť u iných kmeňov alebo druhov G^- baktérií prítomných v rôznych prevádzkach potravinárskeho priemyslu.

ROSTLINNÉ ALERGENY A JEJICH KŘÍŽOVÉ REAKCE (abstrakt)

Žužálková L.[1], Šandová P.[1], Librová I.[1], Zídková J.[1], Petkov Ž.[2], Káš J.[1], Sajdok J.[1]
1-Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
2-Vulkan a.s., Hrádek nad Nisou

Alergické působení řady proteinů rostlinného a živočišného původu představuje závažný zdravotní problém. Molekulárně biologické příčiny těchto alergií nejsou známy. Jedním ze studovaných jevů je tzv. křížové působení těchto alergenů. V této práci jsou studovány strukturní a imunochemické vlastnosti alergeních proteinů z rostlinných zdrojů jako jsou proteiny různého tropického a subtropického ovoce (banány, avokádo, kivi apod.) a proteinů ze stromů, které produkují latex. Z hlediska povrchových antigenů těchto proteinů jsme nalezli významnou podobnost. Imunitní intolerance vůči proteinům latexu, jejichž zdrojem jsou např otěry pneumatik, styk s latexovými výrobky (dětská šidítka, latexové rukavice apod.) a vznik alergické reakce se může později projevovat jako alergie na různé potravinářské výrobky s obsahem rostlinných proteinů. Tyto křížové reakce jsou závažným problémem pro eliminaci těchto alergenů. Analytické stanovení alergenních proteinů v těchto výrobcích, tak jak jej požaduje evropská norma a její česká přeložená verze, je založeno na stanovení celkového množství extrahovatelných proteinů. Jako další možnost, která lépe vystihuje obsah jednotlivých alergenů, prezentujeme imunochemické stanovení alergenů založené na specifických interakcích mezi alergenem a příslušnou protilátkou. Vedle extrahovatelných proteinů zde diskutujeme i možnosti imunochemického stanovení kontaktních alergenů. Strukturní podobnosti různých rostlinných proteinů byly studovány pomocí imunoblotů. Vypracované analytické metody byly použity k úpravě technologického postupu výroby latexových výrobků, pomocí něhož byla podstatným způsobem snížena koncentrace alergenních proteinů.

VLIV VYSOKÉHO HYDROSTATICKÉHO TLAKU NA STABILITU ENZYMŮ

Schenková N., Marek M., Voldřich M.
Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

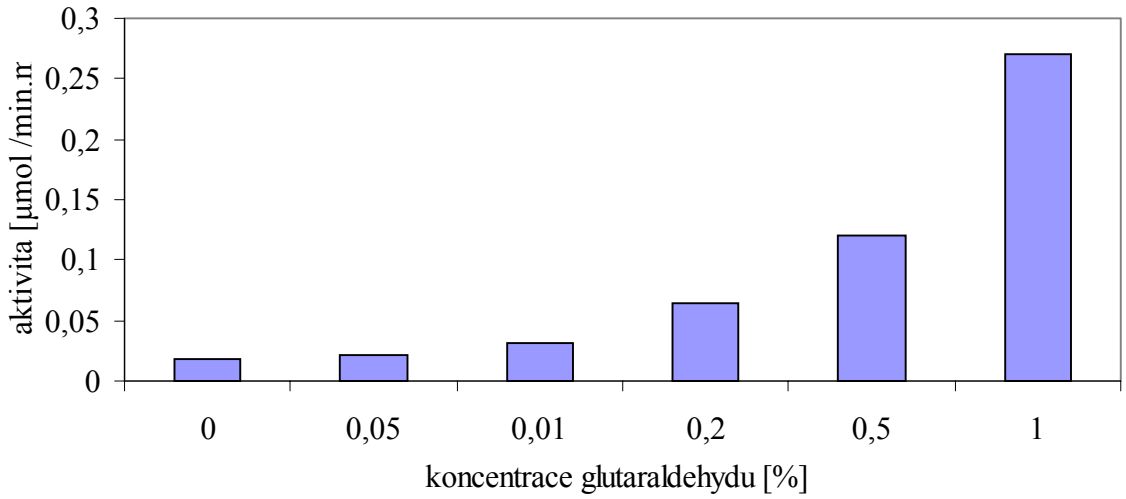
Díky svým destrukčním účinkům na mikroorganismy a enzymy jsou aplikace vysokého izostatického tlaku známy jako potenciální konzervační zákrok již více než století.
Enzymy tvoří zvláštní skupinu proteinů vyznačující se biologickou aktivitou, která je charakteristická urychlováním přeměn substrát - produkt. Pro mechanismus enzymové katalysy je významné tzv. aktivní centrum a třídimenzionální konfigurace polypeptidových řetězců. Malé poškození aktivního centra může vést ke ztrátě enzymové aktivity. Konformační změny mohou vést ke změně funkčnosti enzymu (např. vzrůstu / poklesu biologické aktivity nebo změně v substrátové specifitě).
Kromě vlivu tlaku na strukturu enzymů se uplatňují také další faktory ovlivnitelné tlakem, jako je urychlení nebo inhibice enzymových reakcí v závislosti na rozdílech v objemu výchozích látek, aktivovaného komplexu a produktů, podobně jako je tomu u chemických reakcí obecně (např. enzymové hnědnutí je působením tlaku urychlováno). Může zde hrát roli i tzv. kompartmentalizace enzymu a substrátu v neporušené tkáni. Působením malých tlaků dochází k porušení buněčných membrán, následnému kontaktu enzymu a substrátu a urychlení reakce [1].
Mezi potravinářsky významné enzymy, které jsou tlakem aktivovány, můžeme zařadit např. β-amylasu [2], chymotrypsin [3] nebo lysozymální cathepsin D [4]. Naopak např. lipasa, askorbátoxidasa nebo glukosaoxidasa podléhá poměrně snadné inaktivaci [5].

Experimentální část

Pektinesterasa (Sigma) byla zakoupena jako suspense 3,2 M roztoku $(NH_4)_2SO_4$, pH 7, obsahující 130 $U.mg^{-1}$. Enzym byl zředěn v 1 M K_2HPO_4, pH 7, tak, že výsledná koncentrace činila 0,02 obj. %.
Papain (Sigma) byl zakoupen jako suchý prášek obsahující 1,9 $U.mg^{-1}$. Enzym byl rozpuštěn v 0,2 M Tris pufru, pH 7, nebo 0,2 M fosfátovém pufru, pH 6.
Polyfenoloxidasa (Tyrosinasa, Sigma) byla zakoupena jako suchý prášek obsahující 2000 $U.mg^{-1}$. Enzym byl rozpuštěn ve fosfátovém nebo Tris pufru, pH 7.
Všechny enzymy byly chemicky modifikovány glutaraldehydem tak, že výsledná koncentrace glutaraldehydu v roztoku byla 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 obj. %. Reakční směs byla ponechána 24 hodin při teplotě 4 ° C. Poté následovalo 24 hodinové přečištění vzorků dialýzou vůči fyziologickému roztoku při 4 ° C za současného míchání.
Ošetření vzorků vysokým tlakem bylo prováděno diskontinuálně (500 MPa, 10 min). Roztoky enzymů byly převedeny do předem připravených kapslí z PA/PE folie, uzavřeny, umístěny do vysokotlaké komory a zality vodou jako tlak přenášejícím médiem.
Ošetření vzorků vysokou teplotou probíhalo ve vodní lázni po dobu 60 minut při teplotě 75 ° C.
Stanovení aktivity pektinesterasy bylo založeno na měření methanolu plynovou chromatografií po konverzi na methylnitrit [6].
Aktivita papainu byla měřena spektrofotometricky při 280 nm za použití denaturovaného hemoglobinu jako substrátu [7].
Aktivita polyfenoloxidasy byla měřena pomocí sondy STK-03 (elektrochemické čidlo pro měření kyslíku) [8].

Výsledky

Sledován byl vliv vysokého tlaku a teploty na aktivitu potravinářsky významných enzymů: papainu, pektinesterasy a polyfenoloxidasy. Testován byl také vliv chemické modifikace glutaraldehydem, vliv přídavku albuminu a polyolů (ethylenglykol, glycerol, xylitol, D-glucitol) na stabilitu uvedených enzymů vůči vlivu vysokého tlaku a teploty.
Ošetření papainu a polyfenoloxidasy bylo prováděno ve dvou pufrech, z nichž jako vhodnější se ukázal Tris pufr, ve kterém dochází k výraznější stabilizaci enzymu (polyfenoloxidasy) nebo dokonce k nárůstu enzymové aktivity (papainu).
Přídavek polyolů byl testován v případě polyfenoloxidasy. Všechny výše zmíněné polyoly se projevily jako učinná činidla zmírňující její inaktivaci, nejvyšší stabilizační efekt se však projevil v případě ethylenglykolu a glycerolu.
Sledováním závislosti enzymové aktivity na intramolekulárním překřížení glutaraldehydem bylo zjištěno, že se vzrůstající koncentrací glutaraldehydu dochází ke stabilizaci jak papainu, tak polyfenoloxidasy. Zvyšování koncentrace glutaraldehydu v případě pektinesterasy vede k výraznému nárůstu její aktivity (viz. obr.).



Obr.: Aktivita pektinesterasy po modifikaci glutaraldehydem a ošetření tlakem (500 MPa, 10 min)

Literatura

[1] Hendrickx M., Ludikhuyze L., Van den Broeck I., Weemaes C.: Effects of high pressure on enzymes related to food quality. Trends in Food Science & Technology 9 (1998) 197 – 203.
[2] Tanaka N., Mitani D., Kunugi S.: Pressure-Induced perturbation on the active site of b-amylase monitored from the sulfhydryl reaction. Biochemistry 40(20) (2001) 5914 – 5920.
[3] Mozhaev V., Lange R., Kudryashova E., Balny C.: Application of high hydrostatic pressure for increasing activity and stability of enzymes. Biotechnology and Bioengineering 52(2) (1996) 320 – 331.
[4] Jung, S., Ghoul, M., de Lamballerie-Anton, M.: Changes in lysosomal enzyme activities and shear values of high pressure treated meat during aging. Meat Sci. 56(3) (2000) 239-246.
[5] Brůna D.: Disertační práce. VŠCHT Praha (1999).

[6] Bartolome L. G., Hoff J. E.: Gas chromatographic methods for the assay of pectin methylesterase, free methanol, and methoxy groups in plant tissues. J. Agr. Food Chem. 20 (2) (1972) 262 – 266.
[7] Káš J. a kolektiv: Laboratoř ze speciální biochemie. SNTL (1985) 42 – 43.
[8] Prodělal R.: Diplomová práce (2000).

MODERNÉ TRENDY PRI VÝROBE PEČIVA

Dodok L., Buchtová V., Hozová B., Staruch L., Šiška R.
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

ÚVOD

Z viacerých moderných smerov v cereálnych technológiách v ostatných rokoch sa venuje zvýšená pozornosť výskumu a vývoju zlepšujúcich prostriedkov.

Vzhľadom na veľmi širokú oblasť týkajúcu sa rôznych cereálnych technológií, zameriame pozornosť len na pekárske pomocné prostriedky. Tieto zhruba pôsobia v troch smeroch:
Na zmenu skvasiteľného substrátu pre kvasinky, alebo iné mikroorganizmy a to buď priamo, alebo nepriamo prostredníctvom enzýmových procesov.
Na zmenu hydratácie (napučiavanie) koloidných zložiek cesta, na zlepšenie kyprenia, konzistencie cesta, tvorby striedky i kôrky.
Na zmenu akosi chleba a pečiva, konzistencie striedky, kôrky a na predĺženie trvanlivosti výrobku.

Rad zlepšujúcich prostriedkov má spravidla mnohostranný účinok. Teda vývoj v tejto oblasti smeruje ku komplexným zmesiam s niekoľkorakým účinkom.

ADITÍVNE LÁTKY

Optimalizáciu technologického procesu a kvalitu finálnych výrobkov je možné ovplyvniť účinkami aditívnych enzýmov, z ktorých najčastejšie sa používajú amylázy, lipoxidázy, z novších sú aplikované hemicelulázy, xylanázy, proteázy.

Aplikácia enzýmov ovplyvňuje cesto v nasledovných základných smeroch:
Tvorba skvasiteľných cukrov pôsobením amyláz, vedúca k zintenzívneniu kvasného procesu.
- Skrátenie doby miesenia v dôsledku aplikácie proteáz.

Úprava ťažnosti cesta, jednej z dôležitých vlastností pre správanie sa cesta a to buď prídavkom proteáz zvyšujúcich ťažnosť, alebo oxidáz, ktoré túto schopnosť znižujú
Zmena konzistencie cesta počas spracovania pôsobením amyláz na škrob, proteáz na lepok a pentozanáz na pentózany.
V závislosti od typu pečiva, spôsobu pečenia a kvality múky sa používajú rôzne kombinácie enzýmov, ktoré majú priaznivý účinok na objem, farbu, chuť a vôňu finálneho výrobku ako aj štruktúru kôrky i striedky a čerstvosť.
Ďalšou súčasťou väčšiny komplexných zmesí sú e m u l g á t o r y . Tieto zabezpečujú v ceste a finálnom výrobku nasledovné parametre:
- lepšia disperzia tuku v ceste
- úspora tuku
- spomalenie mazovatenia škrobu
- zlepšenie konzistencie cesta
- zvýšenie zadržania kvasných plynov
- jemnejšia pórovitosť striedky
- schopnosť tvorby komplexov - zvýraznenie chuti
- zvýšenie objemu výrobku
- predĺženie trvanlivosti výrobku

Ako tretia zložka bola použitá k y s e l i n a a s k o r b o v á , ktorej účinky sa prejavili nasledovne:
- spevnenie lepku
- väčšie zadržanie kvasných plynov v ceste
- zlepšenie tvaru výrobku
- zlepšenie pórovitosti a pružnosti striedky.

SÚČASNÝ STAV A VÝVOJ U NÁS

Našou nevýhodou je, že jednotlivé komponenty komplexných zmesí musíme dovážať. Okrem jedinej firmy, ktorá sa zaoberá vývojom a prípravou komplexných zmesí - ostatné firmy ich iba dovážajú a distribuujú do jednotlivých prevádzok. V záujme podporenia prípravy vlastných komplexných zmesí zlepšujúcich prípravkov výskumný cereálny tím na našej katedre sa podujal riešiť tieto problémy. Výsledky experimentov sú overované v praxi a odporúčané pre ich praktickú aplikáciu v priemysle.

CIEĽ

Výber vhodných komponentov pre komplexné zmesi zlepšujúcich prípravkov z hľadiska technologického, senzorického ale aj ekonomického.

Navrhnúť ich optimálne množstvá resp. optimálne kombinácie, ktoré by viedli k vylepšeniu kvality pečiva. Medzi prvoradé požiadavky sú kladené: zväčšenie objemu, predĺženie trvanlivosti pri zachovaní ostatných kvalitatívnych ukazovateľov.

VÝSLEDKY VLASTNÝCH EXPERIMENTOV

Na začiatku experimentálnej práce boli vykonané pokusy s vybranými enzýmami s rôznym pôsobením a to najskôr samostatne, potom v kombinácii s dvomi a tromi.

Ako prvý sa zisťoval optimálny prídavok enzýmu Novamyl 1500 BG (N), ktorý sa pridával priamo do múky s ostatnými zložkami receptúry. Potom sa zisťovali optimálne prídavky ďalších dvoch vybraných enzýmov a to Fungamylu BG (F) a Pentopanu Mono BG (P).

Na základe získaných výsledkov mikropečúcich pokusov sa určili optimálne dávky týchto enzýmov pre pripravovanú komplexnú zmes. Podľa výsledkov predchádzajúcich experimentov sa pridávala do tejto zmesi aj kyselina askorbová (AA).

Z dosiahnutých výsledkov je evidentné, že merné objemy všetkých troch vzoriek sú takmer rovnaké, avšak rozdiel hodnôt penetrácií a pomerového čísla určili vzorku s použitím N = 30 mg / 300 g múky s prídavkom kyseliny askorbovej v množstve 48 mg / 300 g múky pri zachovaní prídavku F = 2 mg a P = 20 mg na 300 g múky ako najlepšiu.

V ďalšej časti experimentov sa skúmal vplyv emulgátorov. Ich použitím sa dosiahli lepšie výsledky vo zvýšení merných objemov, hodnoty pomerových čísiel (výška : šírka) výrobku ale aj hodnoty penetrácie. Ako najúčinnejšia z použitých emulgátorov sa prejavila zmes E 481: E 482 v pomere 1:1, pri najlepšej vzorke s použitím uvedených enzýmov (N, F, P) a kyseliny askorbovej.

Popri mikropečúcich pokusoch boli u všetkých vzoriek sledované aj reologické vlastnosti ciest farinografom, extenzografom a maturografom. Všetky tieto výsledky boli v súlade s navrhovanými optimálnymi množstvami sledovaných zložiek pripravovanej komplexnej zmesi.

ZÁVER

Navrhnutá bola nová komplexná zmes zlepšujúceho prípravku so zameraním na zvýšenie objemu, predĺženia trvanlivosti a zlepšenia niektorých organoleptických vlastností rožkov, ale aj pečiva typu croissant, ktorého technológia je pomerne náročná v porovnaní s inými pekárskymi technológiami. Okrem iných kritérií predčí v súčasnosti používané aj po stránke ekonomickej.

IDENTIFIKACE TĚKAVÝCH LÁTEK VAJEC

Adamiec J., Doležal M., Míková K. a Davídek J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ABSTRAKT

Během stárnutí vajec dochází ke změnám koncentrace těkavých látek.Většina těchto látek se vyskytuje pouze ve žloutku, proto byly experimentálně sledovány pouze tepelně neupravované žloutky. K extrakci látek byla použita metoda Purge and Trap a k analýze metoda plynové chromatografie GC/FID.

Byly sledovány změny koncentrace těkavých látek během skladování v chladničce při teplotě 10 ± 1 °C v průběhu 3 měsíců. Během skladování docházelo k výraznému nárůstu koncentrace některých těkavých látek vznikajících v průběhu stárnutí vajec.

U vybraných píků byly tyto těkavé látky identifikovány metodou standardních přídavků pomocí retenčních indexů. Patří mezi ně acetaldehyd, aceton, butanal, methanol, 2-propanol a ethanol.

ÚVOD

Nutriční hodnota, charakteristické smyslové znaky a zdravotní nezávadnost je obvykle spojována s čerstvostí vejce. Kvalita vajec je ovlivněna nejen stářím vajec, ale i podmínkami skladování, zejména teplotou (Míková, Davídek 2000).

Při stanovení kvality vajec se většinou vychází z fyzikálně chemického měření (např. měření vzduchové bubliny, měření pH, měření indexu lomu žloutku i bílku, měření Haughovy jednotky). V poslední době se věnuje pozornost hledání kriterií, která vycházejí z chemických změn ve vaječném obsahu (Rossi *a kol.* 1995; Hildago *a kol.* 1995) (např. měření koncentrace furosinu, kyseliny mléčné, jantarové a 2-hydroxymáselné).

V současnosti se v praxi, pro určení kvality vajec, nejvíce používá měření Haughových jednotek (H.U.)(Haugh 1937). Výpočet H.U. vychází z hmotnosti (W) vejce a z výšky hustého bílku (H). Výpočet je definován matematickým vztahem, kde ostatní parametry korigují výpočet tak , aby se vztahoval na vejce o hmotnosti 60 g. Nejčastěji se používá rovnice:

$$H.U. = 100 \times \log (H - 1{,}7\ W^{0{,}37} + 7{,}6)$$

Čím větší je hodnota H.U. tím lepší je kvalita vejce lepší, za předpokladu, že ostatní charakteristiky jsou dobré.

Většina studií zabývajících se problematikou těkavých látek vajec se týká tepelně upravovaných vajec. Umano *a kol*. (1990) stanovil 141 těkavých látek vařených celých vajec. Mezi látky dominující zařadili nitrily, alkylbenzeny, ketony, pyraziny, pyrroly a pyridiny.

V tepelně neupravovaném žloutku byl, jako indikátor zhoršení kvality, pozorován nárůst koncentrace těkavých látek, mezi které patří dimethyl sulfid, dimethyl disulfid, dimethyl trisulfid, methyl thioacetat, methanol, ethanol, 1-propanol, aceton, 2-butanon a ethylacetát (Brown *a kol.* 1986). V tepelně neupravovaném čerstvém bílku byly identifikovány aminy, alkoholy, aldehydy a ketony (Sato *a kol*. 1973).

MATERIÁL A METODY

Materiál. Použitá vejce byla od slepic hybridní linie Lohmann (Vejprnice). Tato vejce byla skladována v chladničce po dobu 98 dní při teplotě 10 ± 1 °C K extrakci a následné analýze těkavých

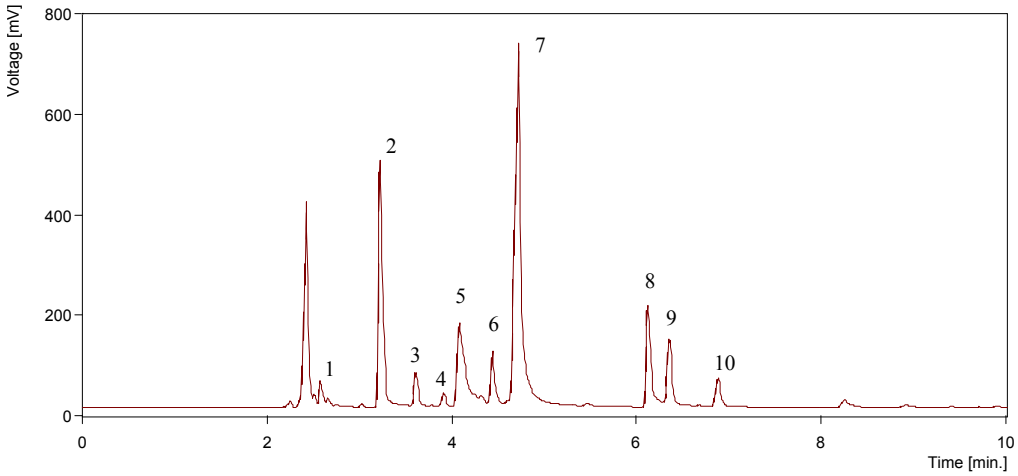
látek bylo použito 30 g syrových žloutků. Současně se stanovením těkavých látek byly měřeny H.U. hodnoty s použitím přístroje TSS EQS.

Purge and Trap. Byl používán Hewlett-Packard Purge and Trap Concentrator se sorbentem Vocarb™ 3000 (Carbopack B/Carboxen). Vzorek byl homogenizován s 50 ml nasyceného roztoku NaCl a umístěn do speciální skleněné nádobky. Průchod dusíku vzorkem probíhal 30 minut. Desorpce probíhala 6 minut při 250 °C. Veškerá práce byla provedena v inertní atmosféře dusíku.¨

Plynová chromatografie. Veškeré analýzy byly provedeny na přístroji Hewlett-Packard 5890 s plamenovým-ionizačním detektorem (FID) a s kapilární kolonou HP-INNOWAX, 30 m × 0,25 × 0,25 µm. Teplota pece byla po dobu 3 min. držena na 40 °C a poté lineárně stoupala do 160 °C po 3 °C/min.Teplota detektoru byla 250 °C.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Byly sledovány změny velikosti plochy deseti vybraných píků, získaných metodou Purge and Trap, během skladování v chladničce při teplotě 10 ± 1 °C. Z těchto deseti píků bylo šest identifikováno metodou standardních přídavků pomocí retenčních indexů. Mezi identifikované látky patří acetaldehyd, aceton, butanal, methanol, 2-propanol a ethanol. Chromatogram získaný analýzou extraktu je na obr. 1. Změny jednotlivých ploch píků jsou ukázány v tab. I.



Obr. 1. Chromatogram těkavých látek vajec získaných metodou Purge and Trap: 1. acetaldehyd; 2. aceton; 3. neidentifikovaná látka 1; 4. butanal; 5. methanol; 6. 2-propanol; 7. ethanol; 8. neidentifikovaná látka 2; 9. neidentifikovaná látka 3; 10. neidentifikovaná látka 4.

Na počátku skladování byla koncentrace všech těkavých látek minimální. U látek jako acetaldehyd, aceton, methanol, ethanol, neidentifikovaná látka 2, neidentifikovaná látka 3 a neidentifikovaná látka 4 docházelo k nárůstu koncentrace během stárnutí vajec, pouze ke konci skladovacího pokusu docházelo k jejímu poklesu, zřejmě způsobeného vytěkáním těchto látek přes skořápku, popř. jejich zapojením do chemických reakcí ve vejci. Těmito důvody může být vysvětlen i kolísavý průběh změn ploch píků u butanalu, 2-propanolu a neidentifikované látky 1.

Tabulka I. Změny ploch píků vybraných těkavých látek vajec během skladování

		počet dní skladování						
látka	RI	1	15	33	50	66	78	99
acetaldehyd	737	16	16	57	84	158	180	108
aceton	826	144	1910	2298	2781	2326	1822	1426
neidentifikovaná. l. 1	867	8	36	113	69	50	79	193
butanal	901	83	233	172	597	280	153	77
methanol	909	52	428	770	974	1010	1338	851
2-propanol	934	32	373	136	133	126	323	325
ethanol	945	112	1052	1913	2962	3608	4653	3176
neidentifikovaná. l. 2	1018	108	646	891	1166	1464	1385	672
neidentifikovaná. l. 3	1027	24	296	523	493	749	593	503
neidentifikovaná. l. 4	1048	15	138	227	254	276	253	208

Současně, s výše popsanými analýzami, byly měřeny Haughovy jednotky, jejichž změna je ukázána v tab. II. Hraniční hodnotou je H.U. = 60. Vejce s nižší hodnotou H.U. jsou z hlediska kvality nepřijatelná. V našem případě nebyla tato hodnota překročena ani po 98 dnech.

Tabulka II. Změny Haughových jednotek (HU) během skladování

počet dní skladování	0	14	32	49	65	79	98
H.U.	93	72	74	61	70	68	64

ZÁVĚR

Bylo zjištěno, že zcela čerstvá vejce mají minimální obsah těkavých látek. Koncentrace těchto látek během stárnutí vajec vzrůstá. Po počátečním nárůstu koncentrace těkavých látek docházelo ke konci skladovacího pokusu k jejímu poklesu. Ten může být způsoben vytěkáním těchto látek přes skořápku, popř. jejich zapojením do chemických reakcí ve vejci.

LITERATURA

1. Míková K., Davídek J.(2000): Czech J. Food Sci., 18 (6), 250-255.
2. Rossi M., Pompei C., Hildago A. (1995): Ital. J. Food., 2, 147-156.
3. Hildago A., Rossi M., Pompei C. (1995): J. Agric. Food Chem., 43 (6), 1673-1682.
4. Haugh R.R. (1937): U.S. Egg. Poult. Mag., 43, 552-555, 572-573.
5. Umano K., Hagi Y., Shoji A., Shibamoto T. (1990): J. Agric. Food Chem., 38, 461-464.
6. Brown M. L., Holbrook D. M., Hoerning E. F., Legendre M. G., Angelo A. J. (1986): Poultry Science, 65, 1925-1933.
7. Sato Y., Watanebe K., Ishihara R. (1973): Jpn. J. Zooch. Sci., 44, 232-240.

STABILITA POLYNENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN PŘI KULINÁRNÍCH ÚPRAVÁCH VAJEC

Doležal M., Míková K.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Abstrakt

V posledních letech se při hodnocení výživové hodnoty lipidů sleduje nejen poměr nasycených a nenasycených mastných kyselin, ale u polynenasycených mastných kyselin (PUFA) i jejich příslušnost k řadě n-3 nebo n-6 (podle polohy poslední dvojné vazby). Nárůst příjmu mastných kyselin řady n-6, jejichž prekursorem je linolová kyselina, vede ke zvýšení rizika rakoviny a k tvorbě prozánětlivých prostaglandinů. Naopak mastné kyseliny řady n-3, jejichž prekursorem je α-linolenová kyselina, mají protizánětlivé účinky a snižují riziko výskytu kardiovaskulárních chorob. Složením krmné směsi lze u živočichů poměr v zastoupení PUFA n-6/n-3 ovlivnit ve prospěch žádoucí řady n-3. Velmi dobrých výsledků se dosahuje i při produkci vajec, kdy poměr n-6/n-3 lipidů vaječného žloutku lze změnit z běžné hodnoty 10 na 1 až 3. Sledované PUFA jsou ovšem relativně nestabilní, oxidují a isomerují zvláště za vyšší teploty a přístupu vzduchu.

Bylo proto u vajec se zvýšeným obsahem PUFA (poměr n-6/n-3 = 2,4) sledováno zastoupení mastných kyselin před a po kulinárních tepelných úpravách (vejce smažená, vařená na měkko, vařená na tvrdo). Zjištěné změny byly zanedbatelné, protože tepelná zátěž je v těchto případech krátkodobá. Vejce tedy zůstávají i po tepelné úpravě výborným zdrojem PUFA řady n-3.

Klíčová slova: vejce, mastné kyseliny, PUFA, EPA, DHA

Úvod

V posledních letech se při hodnocení výživové hodnoty lipidů sleduje nejen poměr nasycených a nenasycených mastných kyselin, ale u polynenasycených mastných kyselin (PUFA) i jejich příslušnost k řadě n-3 nebo n-6 (podle polohy poslední dvojné vazby). Nárůst příjmu mastných kyselin řady n-6, jejichž prekursorem je linolová kyselina, vede ke zvýšení rizika rakoviny a k tvorbě prozánětlivých prostaglandinů. Naopak mastné kyseliny řady n-3, jejichž prekursorem je α-linolenová kyselina, mají antitrombotické, antiaterosklerotické a antizánětlivé účinky a jejich zvýšená konzumace působí jako prevence vzniku kardiovaskulárních chorob. Pozitivní zdravotní vlivy jsou přičítány zejména ikosapentaenové (EPA) a dokosahexaenové kyselině (DHA), která potlačuje průkazně agregaci krevních destiček. Poměr mezi PUFA n-6 a PUFA n-3 by měl být v potravě co nejbližší poměru 1:1 (1-3:1). Nad hodnotu 14:1 se pozitivní vlastnosti PUFA n-3 již neprojevují. Nejbohatšími zdroji PUFA n-3 jsou ryby a některé rostlinné oleje.

Složením krmné směsi lze u živočichů poměr v zastoupení PUFA n-6/n-3 ovlivnit ve prospěch žádoucí řady n-3. Velmi dobrých výsledků se dosahuje i při produkci vajec, kdy poměr n-6/n-3 lipidů vaječného žloutku lze změnit z běžné hodnoty 6-14 na 1 až 3. Takto modifikovaná vejce (bývají označována jako „Vejce Omega“ nebo „Vejce plus“) jsou velmi populární v řadě zemí západní Evropy, v USA a v Izraeli. Jedno obohacené vejce může saturovat více než 200 mg EPA + DHA, přičemž doporučená denní dávka je 350-400 mg. Konzumace vajec obohacených PUFA n-3 vedla ke zvýšení PUFA n-3 v krevní plazmě, nárůstu frakce HDL a poklesu frakce LDL v krevním séru, přičemž se nezvyšovala hladina sérového cholesterolu a mírně klesal systolický tlak. Tyto výsledky byly získány sledováním dobrovolníků, kteří konzumovali po dobu 22 týdnů 7 vajec obohacených PUFA n-3 týdně (1). Jiní autoři uvádějí i pokles cholesterolu a triacylglycerolů v séru při konzumaci 2-3 obohacených vajec denně.

Sledované PUFA jsou ovšem relativně nestabilní, oxidují a isomerují zvláště za vyšší teploty a přístupu vzduchu. Cílem této práce proto bylo ověřit stabilitu polynenasycených mastných kyselin přítomných ve vaječném žloutku po běžných kulinárních úpravách jako je smažení vajec a var na měkko a na tvrdo.

Experimentální část

Čerstvá vejce se zvýšeným obsahem mastných kyselin n-3 byla získána z Drůbežáren Vejprnice. Smažení vajec bylo provedeno na teflonové pánvi bez použití tuku střední intenzitou ohřevu. Vejce vařená na měkko byla připravena ponořením do vody, ze které byla vyndána po 3 minutách varu. Vejce vařená na tvrdo byla ponořena ve vroucí vodě 10 minut.
Lipidy vaječných žloutků byly uvolněny kyselou hydrolýzou za použití koncentrované kyseliny chlorovodíkové 35 % (m/m), 30 min. varem na vodní lázni pod zpětným chladičem v inertní atmosféře (dusík) (2). Po extrakci lipidů diethyletherem a petroletherem byly transesterifikací methanolickým roztokem hydroxidu draselného připraveny methylestery mastných kyselin (3). Ty byly extrahovány do hexanu a analyzovány metodou plynové chromatografie. Stanovení bylo provedeno na přístroji Hewlett-Packard 5890 s plamenno-ionizačním detektorem na kapilární koloně SP 2560 (Supelco, 100m x 0,25 mm, tloušťka filmu0,20 μm). Identifikace mastných kyselin byla provedena metodou GC/MS na přístroji Hewlett-Packard G1800 za pomoci standardů (4-5).

Výsledky a diskuse

Vaječné lipidy, obsahující fosfolipidy a triacylglyceroly, tvoří zhruba 2/3 sušiny žloutku. Na rozdíl od mnoha jiných živočišných tuků se vyznačují velmi příznivým poměrem mezi nenasycenými a nasycenými mastnými kyselinami. Celkem bylo identifikováno 12 nasycených a více než 30 nenasycených mastných kyselin (tabulka 1). Cis isomery oktadecenové kyseliny, cis trans isomery oktadekadienové a oktadekatrienové kyseliny jsou vyjádřeny v součtu. Nejvíce byly v lipidech syrového žloutku zastoupeny kyseliny olejová (41,53 %), palmitová (22,77 %), linolová (12,61 %), stearová (7,41 %), palmitolejová (3,31 %), dokosahexaenová (3,15 %), cis-11-oktadecenová (2,33 %) a α-linolenová (1,65 %). Podíl dalších jednotlivých kyselin byl nižší než 1 %.
Poměr obsahu nenasycených kyselin ku nasyceným se pohyboval od 2,02 do 2,21 (tabulka 2). Poměr polynenasycených kyselin n-6/n-3 se pohyboval od 2,38 u vajec vařených na měkko po 2,44 u vajec smažených a syrových.

Tabulka 1. Zastoupení mastných kyselin v lipidech vaječného žloutku (%)

Mastná kyselina	Symbol	Řada	Kulinární úprava vajec			
			syrová	smažená	na měkko	na tvrdo
Nasycená						
Kaprylová	8:0		stopy	stopy	stopy	stopy
Kaprinová	10:0		stopy	stopy	stopy	stopy
Laurová	12:0		0,01	0,02	0,01	stopy
Myristová	14:0		0,49	0,51	0,38	0,53
Pentadekanová	15:0		0,12	0,13	0,10	0,13
Palmitová	16:0		22,77	24,24	22,25	23,83
Margarová	17:0		0,25	0,25	0,23	0,26
Stearová	18:0		7,41	7,66	8,15	7,57
Arachová	20:0		0,03	0,02	0,03	0,02
Behenová	22:0		0,02	0,03	0,03	0,03
Lignocerová	24:0		0,01	0,01	0,01	0,01
Cerotová	26:0		0,03	0,05	0,11	0,07
Nenasycená						
Myristolejová	14:1 Δ9c		0,10	0,10	0,07	0,11
Hexadecenová	16:1 Δ7c		1,00	0,70	0,84	0,73
Palmitolejová	16:1 Δ9c		3,31	3,19	2,58	3,36
Hexadecenová	16:1 Δ11c		0,05	0,05	0,04	0,05
Hexadecenová	16:1 Δ9t		0,23	0,23	0,20	0,21
Olejová	18:1 Δ9c		41,53	38,52	40,98	37,68
Oktadecenová	18:1 Δ11c		2,33	2,58	2,75	2,43
Oktadecenová	18:1 cis isomery (Δ12c-Δ16c)		0,22	0,22	0,17	0,25
Elaidová	18:1 Δ9t		0,14	0,20	0,11	0,16
Linolová	18:2 Δ9c,12c	n-6	12,61	12,81	11,12	13,19
Oktadekadienová	18:2 cis trans isomery		0,08	0,07	0,08	0,08
γ-Linolenová	18:3 Δ6c,9c,12c	n-6	0,05	0,04	0,05	0,06
α-Linolenová	18:3 Δ9c,12c,15c	n-3	1,65	1,79	1,23	1,72
Oktadekatrienová	18:3 cis trans isomery		0,10	0,08	0,07	0,08
Oktadekatetraenová	18:4 Δ6c,9c,12c,15c	n-3	0,02	0,02	0,02	0,02
Gadolejová	20:1 Δ9c		0,09	0,12	0,09	0,11
Gondová	20:1 Δ11c		0,40	0,42	0,36	0,45
Ikosadienová	20:2 Δ8c,14c		0,02	0,02	0,03	0,03
Ikosadienová	20:2 Δ11c,14c		0,11	0,12	0,10	0,12
Ikosatrienová	20:3 Δ8c,11c,14c	n-6	0,09	0,11	0,10	0,11
Ikosatrienová	20:3 Δ11c,14c,17c	n-3	0,03	0,05	0,03	0,04
Arachidonová	20:4 Δ5c,8c,11c,14c	n-6	0,70	0,75	0,95	0,80
Ikosatetraenová	20:4 Δ8c,11c,14c,17c	n-3	0,02	0,02	0,02	0,02
Ikosapentaenová	20:5 Δ5c,8c,11c,14c,17c	n-3	0,28	0,30	0,32	0,31
Cetolejová	22:1 Δ11c		0,03	0,04	0,03	0,04
Dokosatetraenová	22:4 Δ7c,10c,13c,16c	n-6	0,07	0,06	0,06	0,08
Dokosapentaenová	22:5 Δ4c,7c,10c,13c,16c	n-6	0,02	0,03	0,03	0,03
Dokosapentaenová	22:5 Δ7c,10c,13c,16c,19c	n-3	0,45	0,42	0,34	0,42
Dokosahexaenová	22:6 Δ4c,7c,10c,13c,16c,19c	n-3	3,15	3,11	3,27	3,41
Nervonová	24:1 Δ15c		0,05	0,17	0,25	0,17
Další mastné kyseliny			0,16	0,74	2,41	1,49

Tabulka 2. Zastoupení skupin mastných kyselin (MK) v lipidech vaječného žloutku (%)

Mastná kyselina	Kulinární úprava vajec			
	syrová	smažená	na měkko	na tvrdo
Nasycené MK celkem (SFA)	31,14	32,92	31,30	32,45
(UFA)	68,70	66,34	66,29	66,06
nasyceným MK	2,21	2,02	2,12	2,04
(MUFA)	49,25	46,54	48,47	45,54
(PUFA)	19,45	19,80	17,82	20,52
MK n-6 celkem	13,67	13,94	12,44	14,42
MK n-3 celkem	5,60	5,71	5,23	5,94
Poměr MK n-6/n-3	2,44	2,44	2,38	2,43

Závěr

U vajec se zvýšeným obsahem PUFA (poměr n-6/n-3 = 2,4) bylo sledováno zastoupení mastných kyselin před a po kulinárních tepelných úpravách (vejce smažená, vařená na měkko, vařená na tvrdo). Zjištěné změny byly zanedbatelné, protože tepelná zátěž je v těchto případech krátkodobá. Vejce tedy zůstávají i po tepelné úpravě výborným zdrojem PUFA řady n-3.

Vejce se zvýšeným obsahem PUFA n-3, která jsou již dostupná i na našem trhu, představují vhodnou alternativu zvýšení příjmu těchto látek pro země s nízkou spotřebou ryb a měla by jim být věnována příslušná pozornost.

Literatura

1. Yannakopoulos A.L., Tserveni-Gousi A.S., Christaki E., Fortomaris P., Avramidis A., Delaroudis E., Yannakakis E.: Proc. European symposium on the quality of eggs and egg products. 19 Sep 1999, Bologna, Italy, p.479
2. Methods of Analysis -A.O.A.C.- Thirteen edition, 276, (1980)
3. Sedlářová M.: Diplomová práce, VŠCHT Praha, (1993)
4. Ratnayake W.M.N., Hollywood R., O'Grady E., Beare-Rogers J.L.: J. Amer. Oil Chem. Soc. 67, 804 (1990)
5. Ratnayake W.M.N., Pelletier G.: J. Amer. Oil Chem. Soc. 69, 95 (1992)

OXIDATIVNÍ DEGRADACE D-GLUKOSY A D-FRUKTOSY PEROXIDISÍRANEM

Novotný O., Michovská S., Velíšek J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, 166 28 Praha 6

Souhrn

Práce se zabývá studiem produktů oxidativní degradace, které vznikají při zahřívání D-glukosy nebo D-fruktosy s peroxodisíranem draselným ($K_2S_2O_8$), buď ve vodném prostředí, nebo v 0,3 M roztoku hydroxidu sodného. Produkty vzniklé v této reakční směsi byly převedeny na trimethylsilylethery nebo trimethylsilylované oximy a stanoveny metodou GC/FID. Kyseliny (ve formě sodných solí) vzniklé v reakčních směsích s hydroxidem sodným byly nejdříve převedeny na amonné sole pomocí katexu. Identifikace produktů byla provedena metodou GC/MS a porovnáním s retenčními časy standardů. Reakční mechanismy vedoucí ke vzniku identifikovaných produktů jsou diskutovány.

Klíčová slova: D-glukosa, D-fruktosa, peroxodisíran, oxidativní degradace

Úvod

K oxidaci sacharidů dochází enzymově, vzdušným kyslíkem, při karamelizaci, nebo běžnými oxidačními činidly v kyselém i bazickém prostředí. Rozsah oxidace závisí především na pH prostředí, teplotě, druhu sacharidu a vlastnostech oxidačního činidla. Několik prací se zabývalo studiem oxidačních produktů vznikajících v reakci sacharidů s různými činidly jako například peroxidem vodíku (Isbell *et al.*, 1973), molekulárním kyslíkem v alkalickém roztoku (Vuorinen, 1985), nebo ozonem (Marcq *et al.*, 2001). Rovněž bylo pozorováno, že ve velké míře dochází k oxidaci působením ionizujícího záření, například při γ-radiolýze v přítomnosti vzduchu (Kawakishi *et al.*, 1975). Stejně tak po působení UV záření byla pozorována rozsáhlá oxidace sacharidů (Phillips *et al.*, 1964). Hlavními oxidačními produkty detekovanými ve zmíněných modelových systémech byly nižší sacharidy, glykosulosy, deoxyglykosulosy a cukerné kyseliny, a to jednak s původním řetězcem sacharidu, nebo s řetězcem zkráceným. Rovněž byla zaznamenána tvorba oxidu uhličitého a vznik řady nížemolekulárních hydroxykarboxylových kyselin. Bylo zjištěno, že významnou úlohu v oxidačních reakcích sacharidů hrají volné radikály a radikálové reakce.
Tato práce je zaměřena na studium produktů oxidačních reakcí sacharidů, které vznikají při reakci s peroxodisíranem draselným ($K_2S_2O_8$). Peroxodisíran je nejen silné oxidační činidlo, ale po svém rozkladu poskytuje též volné radikály, které významně přispívají k rozkladu sacharidů. Je známo, že $K_2S_2O_8$ ve vodných roztocích uvolňuje O_2 a tvoří $KHSO_4$. Při vyšších teplotách vede jeho rozklad k tvorbě O_2 a $K_2S_2O_7$ (Merck Index). Tepelným rozkladem rovněž vzniká síranový radikál (SO_4^{-} •)(Staško *et al.*, 2000), který může reagovat s vodou za tvorby hydroxylového radikálu (•OH) a O_2 (Hayon *et al.*, 1972). Takže oxidace sacharidů v reakčním systému s peroxodisíranem může být zahájena buď síranovým nebo hydroxylovým radikálem. Oba radikály iniciují reakce sacharidů odtržením vodíku z C-H vazeb a tvorbou sacharidových radikálů. Vzniklé radikály pak podléhají celé řadě dalších reakcí. Účinkem molekulárního kyslíku dochází k oxidačním dějům. Použité činidlo vstupuje do reakce pouze tím, že poskytuje volné radikály vyvolávající rozklad sacharidů a kyslík, který se podílí na jejich oxidaci. Jiným způsobem se reakce neúčastní, což je pro náš modelový systém, ve kterém se zaměřujeme pouze na oxidační a radikálové děje v přeměnách sacharidů, rozhodující. Protože na rozsah oxidativní degradace má významný vliv pH prostředí, byly reakční produkty studovány ve dvou různých oblastech pH.

Materiál a metody

Chemikálie: D-Fruktosa a D-glukosa (Sigma), acetonitril, *N,N*-dimethylformamid (Merck), 1-dimethylaminopropan-2-ol, *N*-trimethylsilylimidazol a *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid (Fluka). Peroxodisíran draselný, hydrochlorid hydroxylaminu, pyridin a ostatní chemikálie byly od firem Lachema nebo Penta. 3-Deoxy-D-*erythro*-hexos-2-ulosa a 3-deoxy-D-*glycero*-pentos-2-ulosa byly syntetizovány metodou popsanou Madsonem a Featherem (1981). D-*Arabino*-hexos-2-ulosa byla syntetizována metodou popsanou Salamonem *et al.* (1952).
Reakční směs: Zkoumaný sacharid (5 mmol) a peroxodisíran draselný (5 mmol) byly rozpuštěny v 50 ml vody nebo 0,3 M hydroxidu sodného a směs byla vařena pod zpětným chladičem 1 h.
Převedení kyselin na amonné sole: Kyseliny nacházející se v reakčních směsích s NaOH ve formě sodných solí byly převedeny na amonné sole (vhodnější pro derivatizaci) pomocí katexu Dowex 50Wx8 (mesh 20-50). K reakční směsi byl přidán vnitřní standard D-arabinitol nebo D-glucitol (analýza silylovaných produktů) nebo D-ribosa (silylované oximy) a směs byla přehnána přes katex v koloně (vnitřní průměr 10 mm). Horní vrstva katexu (8 cm) byla v H^+ formě, spodní vrstva (8 cm) v NH_4^+ formě. Katex byl předtím kondicionován v 1,5 M HCl resp.1,5 M NH_4Cl po dobu 3 hodin a důkladně pomyt vodou. Prvních 15 ml eluentu bylo dáno stranou (mrtvý objem kolony), následující elunt byl použit ke stanovení.
Oximace a silylace: K 0,5 ml reakční směsi byl přidán vnitřní standard (D-ribosa) a směs byla odpařena na rotační vakuové odparce. Po vysušení odparku v sušárně (110 °C, 5 min) bylo přidáno 0,4 ml oximačního činidla (1,2 g hydrochloridu hydroxylaminu, 8 ml bezvodého pyridinu, 4 ml bezvodého methanolu a 1,1 ml 1-dimethylaminopropan-2- olu) a směs byla temperována 2,5 h při 70 °C. Poté byla odfukem v proudu dusíku zahuštěna do sirupovité konzistence, bylo k ní přidáno 150 µl *N*-trimethylsilylimidazolu a 150 µl *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoracetamidu a byla analyzována metodou GC/FID a GC/MS.
Silylace: K 0,5 ml reakční směsi byl přidán vnitřní standard (D-glucitol nebo D-arabinitol) a směs byla odpařena na rotační vakuové odparce. Odparek byl vysušen v sušárně (110 °C, 5 min) a rozpuštěn v 0,2 ml směsi acetonitrilu a *N,N*-dimethylformamidu (1:1). Po přídavku 150 µl *N*-trimethylsilylimidazolu a 150 µl *N,O*-bis(trimethylsilyl)-trifluoracetamidu byla směs temperována 10 min při 70 °C a analyzována metodou GC/MS a GC/FID.
Analýza: Reakční produkty po derivatizaci byly analyzovány na plynovém chromatografu Hewlett-Packard 4890A s plamenovým-ionizačním detektorem s použitím kolony HP-5 (délka: 30 m, vnitřní průměr: 0,25 mm, tloušťka filmu: 0,25 µm). Analýzy byly provedeny s následujícím teplotním programem: počáteční teplota 150 °C (2 min), konečná teplota: 280 °C (25 min), teplotní gradient: 5 °C/min (analýza silylovaných produktů) nebo 8 °C (analýza silylovaných oximů). Teplota injektoru resp. detektoru byla 260 °C resp. 280 °C. Průtok nosného plynu (He) byl 1 ml/min. Vzorek (1 µl) byl nanášen na kolonu v poměru 1:10. Identifikace produktů byla provedena na plynovém chromatografu s kvadrupolovým hmotnostním detektorem (GCD systém G1800A, Hewlett-Packard) s ionizačním napětím 70 eV se stejnou kolonou a při stejných podmínkách jaké byly výše popsány. Spektra byla snímána v režimu TIC v rozmezí 10-425 m/z. K identifikaci produktů byla použita databáze hmotnostních spekter Wiley275.L.

Výsledky a diskuse

V této práci byla studována oxidativní degradace D-fruktosy a D-glukosy vyvolaná peroxodisíranem draselným ($K_2S_2O_8$) při zahřívání ve vodných roztocích nebo v roztocích 0,3 M hydroxidu sodného. V reakčních směsích obou zkoumaných sacharidů dochází během reakce ke značnému poklesu pH

(Tab. I). To je způsobeno tvorbou velkého množství kyselin, které jsou hlavními oxidačními produkty sacharidů. Nízkou počáteční hodnotu pH vodné reakční směsi způsobuje hydrolýza peroxodisíranu, při níž vzniká hydrogensíran (HSO_4^-). Za použitých reakčních podmínek docházelo k rozkladu sacharidů v rozsahu 34 % až 86 % (Tab. I). Bylo zjištěno, že ve vodném prostředí je D-fruktosa přibližně dvakrát reaktivnější než D-glukosa. V alkalickém prostředí probíhá rozklad obou sacharidů v podstatně větším rozsahu než v kyselém prostředí.

Tabulka I Změna pH reakční směsi a množství rozloženého sacharidu po reakci s peroxodisíranem draselným

Sacharid	Reakční prostředí	pH reakční směsi		Množství rozloženého sacharidu v %
		před reakcí	po reakci	
D-glukosa	voda	3,45	1,60	34
D-fruktosa	voda	3,50	1,45	66
D-glukosa	0,3 M NaOH	12,90	6,90	77
D-fruktosa	0,3 M NaOH	12,80	6,85	86

Po reakci D-fruktosy a D-glukosy s peroxodisíranem draselným bylo identifikováno v kyselém i v alkalickém prostředí celkem 29 produktů. V tab. II jsou uvedeny identifikované produkty společně s jejich množstvím stanoveným v jednotlivých reakčních směsích. Mezi hlavními produkty byly detekovány především cukerné a deoxycukerné kyseliny a jejich laktony, některé nížemolekulárních hydroxykarboxylové kyseliny, dále pak ulosy a nižší sacharidy. Sacharidy, ulosy a deoxyulosy byly stanoveny ve formě silylovaných oximů nebo dioximů, které vznikají po reakci karbonylové skupiny s hydroxylaminem a následné silylaci. Ostatní produkty byly stanoveny ve formě trimethylsilyletherů, které vznikají po reakci silylačního činidla s hydroxylovými skupinami. Kyseliny vznikající jako produkty ve směsích, kde reakční prostředí tvoří hydroxid sodný, jsou ve formě sodných solí. Aby bylo možné tyto produkty derivatizovat, je nutné je převést na formu rozpustnější, jak v rozpouštědlech, ve kterých se derivatizace provádí, tak v samotných derivatizačnch činidlech. Z tohoto důvodu byly sodné soli převedeny na amonné soli, které mají v použitých činidlech výrazně vyšší rozpustnost. Cukerné a deoxycukerné kyseliny byly detekovány převáženě ve formě laktonů, které z nich ochotně vznikají, zvláště v kyselém prostředí. Zůstává otázkou, jaký je podíl laktonů a volných kyselin přímo v reakční směsi na konci reakce, a jaké množství laktonů vzniká spontánně při derivatizaci.
Jak se dalo předpokládat, hlavním oxidačním produktem ve vodné reakční směsi D-glukosy byla D-glukonová kyselina, detekovaná hlavně jako 1,5-lakton. V nepatrném množství byla stanovena i D-glukuronová kyselina a její 3,6-lakton. Tato kyselina vzniká oxidací primární hydroxylové skupiny. Ve významném množství byla ve formě 1,4-laktonu nalezena u D-glukosy také 2-deoxy-D-*arabino*-hexonová kyselina, která vzniká oxidací 2-deoxy-D-glukosy nebo přímo z D-glukono-1,4-laktonu. Pouze v reakční směsi D-fruktosy byl stanoven 1,4-lakton 3-deoxy-D-*arabino*-hexonové (*meta*-sacharové) kyseliny, která vzniká intermolekulární Cannizzarovou reakcí z 3-deoxy-D-*erythro*-hexos-2-ulosy. Mezi oxidačními produkty byly dále detekovány nižší cukerné kyseliny (D-arabinonová, D-erythronová a D-glycerová). V alkalickém prostředí byly nalezeny rovněž epimery některých těchto kyselin (D-ribonová a D-threonová kyselina). Existuje několik možných mechanismů, které vysvětlují vznik těchto produktů. První z nich je založen na fragmentaci sacharidů nebo jejich enolátů a následné oxidaci vzniklých fragmentů. Fragmentací 1,2-endiolu vzniká D-arabinosa a formaldehyd, 2,3-endiol poskytuje acetaldehyd a D-erythrosu. Retroaldolizačním štěpením D-glukosy vznikají dvě molekuly D-glyceraldehydu, D-fruktosa poskytuje dihydroxyaceton a D-glyceraldehyd. Rovněž štěpením ulos vzniká řada různých fragmentů.

Jiný mechanismus je založen na autooxidaci enolátů za vzniku nestálých hydroperoxidů. Po jejich rozkladu dochází přímo ke vzniku dvou odpovídajících nižších kyselin (Vuorinen, 1985). Ruffova degradace může být další cestou pro zkracování cukerného řetězce během oxidace (Isbell a Salam, 1981). Jedná se o dekarboxylaci aldonových kyselin za vzniku nižších aldos. Rovněž bylo pozorováno uvolňování oxidu uhličitého z alduronových kyselin (Marcq *et al.*, 2001). Při oxidaci sacharidů peroxidem vodíku byl zase popsán mechanismus založený na adici peroxidu vodíku na aldehydovou skupinu sacharidu a rozkladu tohoto aduktu na nižší aldosu, vodu a mravenčí kyselinu (Isbell *et al.*, 1973). Tak například D-glycerová kyselina může vznikat oxidací D-glyceraldehydu,

Tabulka II Produkty identifikované po oxidaci D-glukosy a D-fruktosy peroxodisíranem

Produkt	**Identi-fikace[a)]**	**mol produktu na 1 mol sacharidu**			
		D-glukosa		**D-fruktosa**	
		voda	**0,3 M NaOH**	**voda**	**0,3 M NaOH**
Cukry a anhydrocukry					
D-glukosa	MS, RT	0,592	0,208	0,004	0,234
1,6-anhydro-β-D-glukopyranosa	MS	0,010	0,002	-	-
D-mannosa	MS, RT	-	0,064	-	0,018
D-fruktosa	MS, RT	-	0,081	0,306	0,130
D-psikosa	RT	-	0,012	-	0,016
D-arabinosa	MS, RT	0,029	0,010	0,004	0,006
D-erythrosa	MS, RT	stopy	0,001	0,002	0,001
Ulosy a deoxyulosy					
D-*arabino*-hexos-2-ulosa	MS, RT	0,040	0,013	0,063	0,010
3-deoxy-D-*erythro*-hexos-2-ulosa	MS, RT	-	0,002	0,002	0,002
3-deoxy-D-*glycero*-pentos-2-ulosa	MS, RT	0,008	0,001	0,002	0,002
3,4,5-trihydroxytetrahydrofurylglykolaldehyd	MS	0,024	-	-	-
Laktony deoxycukerných kyselin					
3-deoxy-D-*arabino*-hexono-1,4-lakton	MS	-	0,010	-	0,016
2-deoxy-D-*arabino*-hexono-1,4-lakton	MS	0,028	0,026	-	0,007
Cukerné kyseliny a jejich laktony					
D-glukonová kyselina	MS, RT	0,003	stopy	-	-
D-glukono-1,4-lakton	MS, RT	b)	b)	-	b)
D-glukono-1,5-lakton	MS, RT	0,067	0,13	-	-
D-glukuronová kyselina	MS, RT	0,001	stopy	-	-
D-glukurono-3,6-lakton	MS	0,001	-	-	-
D-arabinonová kyselina	MS, RT	-	0,002	0,007	0,002
D-arabino-1,4-lakton	MS, RT	0,005	0,016	0,030	0,001
D-arabino-1,5-lakton	MS	-	0,002	-	0,003
D-ribono-1,4-lakton	MS	-	0,008	-	0,013
tetronová kyselina I [c)]	MS	-	0,007	-	0,003
tetronová kyselina II [c)]	MS	-	0,004	-	0,006
D-erythrono-1,4-lakton	MS	0,003	0,018	0,003	0,047
D-threono-1,4-lakton	MS	-	0,004	-	0,016
D-glycerová kyselina	MS	0,002	0,071	0,012	0,189
Hydroxykarboxylové kyseliny					
tartronová kyselina	MS	-	0,014	-	0,031
2,3-dihydroxybutanová kyselina	MS	-	0,002	-	0,002

[a)] MS-identifikace na základě porovnání hmotnostního spektra se spektrem sloučeniny navrženým knihovnou hmotnostních spekter, RT-identifikace na základě porovnání retenčního času s retenčním časem autentické sloučeniny (standardu)
[b)] sloučenina nebyla kvantifikována z důvodu koeluce s jinou látkou

[c)] kyseliny D-erythronová a D-threonová nebyly rozlišeny, protože jejich hmotnostní spektra byla identická a standardy nebyly dostupné

nebo se může tvořit benzilovým přesmykem hydroxymethylglyoxalu, který vzniká isomerací a oxidací dihydroxyacetonu (Vuorinen, 1985). Hydroxymethylglyoxal je meziproduktem i dalšího identifikovaného produktu tartronové (2-hydroxypropandiové) kyseliny. Tato kyselina vzniká oxidací její aldehydu (2-hydroxypropan-1,3-dialu), který vzniká isomerací hydroxymethylglyoxalu. Mezi reakčními produkty byla identifikovaná rovněž 2,3-dihydroxybutanová kyselina, která může vznikat oxidací aldolizačního produktu glykoladehydu a glyceraldehydu. Poslední dvě zmiňované kyseliny byly detekovány pouze v alkalických reakčních směsích.

Nižší aldosy D-arabinosa a D-erythrosa byly rovněž identifikovány v reakčních směsích, což potvrzuje platnost zmíněných mechanismů degradace. V alkalických reakčních směsích byly nalezeny i epimery zkoumaných sacharidů D-psikosa a D-mannosa a produkty isomerace typu aldosa-ketosa. D-*Arabino*-hexos-2-ulosa byla jedním z hlavních oxidačních produktů v kyselých reakčních směsích obou sacharidů. V reakční směsi D-fruktosy jí za daných experimentálních podmínek vznikalo přibližně o 50 % více než z D-glukosy. Tato ulosa vzniká jednoelektronovou oxidací, která je v naší reakční směsi iniciována volnými radikály (síranovými a hydroxylovými). V alkalických reakčních směsích byla D-*arabino*-hexos-2-ulosa detekována jen v nepatrném množství. Mezi dalšími identifikovanými ulosami byly 3-deoxy-D-*erythro*-hexos-2-ulosa a její nižší homolog 3-deoxy-D-*glycero*-pentos-2-ulosa. Obě tyto ulosy vznikají *via* příslušný 1,2-endiol ztrátou jedné molekuly vody. Pouze v kyselé reakční směsi D-glukosy byl identifikován 3,4,5-trihydroxytetrahydrofurylglykolaldehyd. Struktura této sloučeniny naznačuje, že se jedná o cyklický poloacetal vznikající adicí C-3 hydroxylové skupiny na C-6 karbonylovou skupinu. Není však jasné, zda takováto sloučenina, která má oxidovanou primární hydroxylovou skupinu na karbonylovou, může za daných experimentálních podmínek vznikat. V malém množství byla v reakčních směsích D-glukosy detekována 1,6-anhydro-β-D-glukopyranosa (β-glukosan), která vzniká intramolekulární kondenzací poloacetalové hydroxyskupiny s primární hydroxyskupinou.

Závěr

Bylo zjištěno, že oba sacharidy vykazují vyšší reaktivitu v alkalickém prostředí. V alkalických roztocích byla zaznamenána tvorba nižších cukerných kyselin jako hlavních produktů. Naproti tomu v kyselých roztocích docházelo k tvorbě oxidačních produktů s původním uhlíkovým řetězcem sacharidu. Větší reaktivita v alkalickém prostředí může být do jisté míry způsobena i tvorbou většího množství hydroxylových radikálů vznikajících po reakci síranového radikálu s vodou. Rychlost této reakce roste s rostoucím pH.

Literatura

Hayon E., Treinin A., Wilf J. (1972): Electronic spectra, photochemistry, and autooxidation mechanism of the sulfite-bisulfite-pyrosulfite systems. The SO_2^-, SO_3^-, SO_4^-, and SO_5^- radicals. *J. Am.Chem.Soc.*, **94:1**:47-57

Isbell H.S., Frush H.L., Martin E.T. (1973): Reactions of carbohydrates with hydroperoxides. Part I.: Oxidation of aldoses with sodium peroxide. *Carbohydr. Res.,* **26**: 287-295

Isbell H.S., Salam M.A. (1981): Degradation of calcium D-gluconate-*2-d* with alkaline hydrogen peroxide. *J. Carbohydr. Chem.,* **88**: 123-126

Kawakishi S., Kito Y., Namiki M. (1975): γ-Radiolysis of D-glucose in areated, aqueous solution. *Carbohydr. Res.,* **39**: 263-269

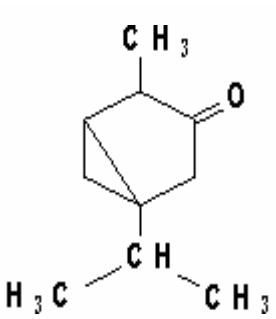
Madson M.A., Feather M.S. (1981): An improved preparation of 3-deoxy-D-*erythro*-hexos-2-ulose *via* the bis(benzoylhydrazone) and some related constitutional studies. *Carbohydr. Res.*, **94**:183-191
Marcq O., Barbe J.M., Trichet A., Guilard R. (2001): Origin and significance of the production of carbon dioxide during the ozonization of ^{13}C-labeled D-glucose at different pH values. *Carbohydr. Res*., **333**: 233-240
The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals.(1996) *Merck Res.Lab.*, *New york*, p.92
Phillips G.O., Barber P., Rickards T. (1964): Photo-degradation of carbohydrates. Part III: Sensitized photo-oxidation of D-sorbitol. *J. Chem. Soc.*: 3443
Salomon L.L., Burns J.J., King C.G. (1952): Synthesis of L-ascorbic-1-C^{14} acid from D-sorbitol. *J. Am. Chem. Soc*., **74**: 5161-5162
Staško A., Brezová V., Liptáková M., Šavel J. (2000): Thermally initiated radical reactions of $K_2S_2O_8$: EPR spin trapping investigations. *Magn. Reson. In Chem.,* **38**: 957-962
Vuorinen T. (1985): Cleavage of the intermediate hydroperoxides in the oxidation of D-glucose and D-fructose with oxygen. *Carbohydr. Res*., **141**: 319-322

STANOVENÍ THUJONU V ABSINTHU

Kohoutková J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Pravý absinth je lihovina vyrobená mimo jiné z výtažků pelyňku pravého Artemisia absinthum. Ten se dává do absinthu , aby se zastřela chuť alkoholu, kterého absinth obsahuje 50 – 72%. Součástí pelyňkových silic je alkaloid thujon. Větší obsah thujonu v pravém absinthu je ale z hlediska zdravotní nezávadnosti nežádoucí, protože tento alkaloid působí podle zdravotníků degenerativně na centrální nervovou soustavu při nadměrném užívání.

THUJON
Synonym: [(-)-1-isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexan-3-one]
Sumární vzorec: C10H16O
Molekulová hmotnost: 152. 24
Teplota vznícení (°F): 148
CAS: 1125-12-8
Bod varu (°C): 86 / 17
Refrakční index: 1.4550
Optická rotace: [alpha]20 -15° (neat)

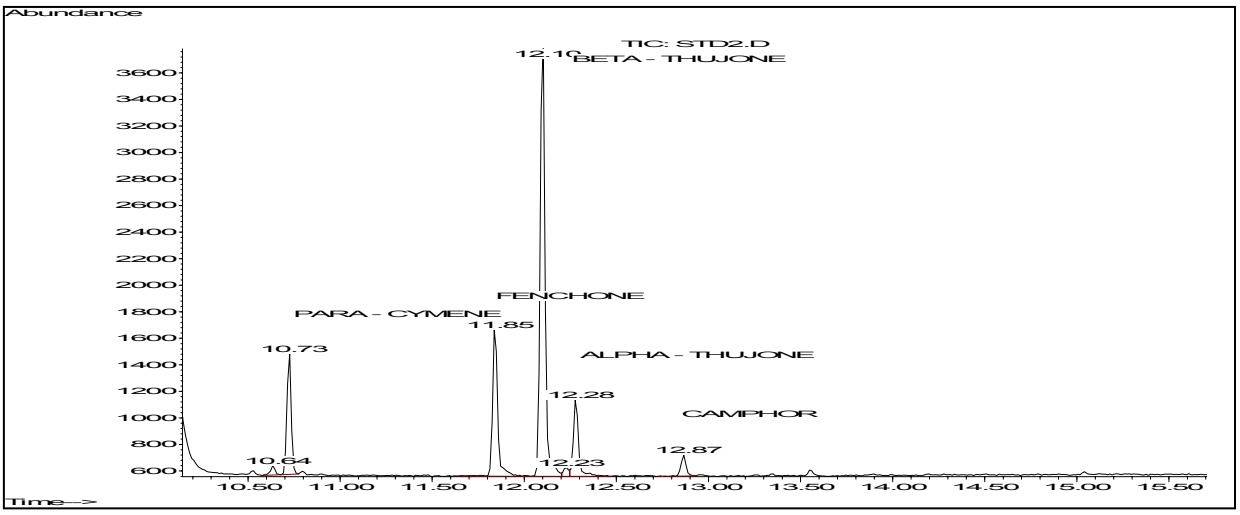


ANALYTICKÝ POSTUP

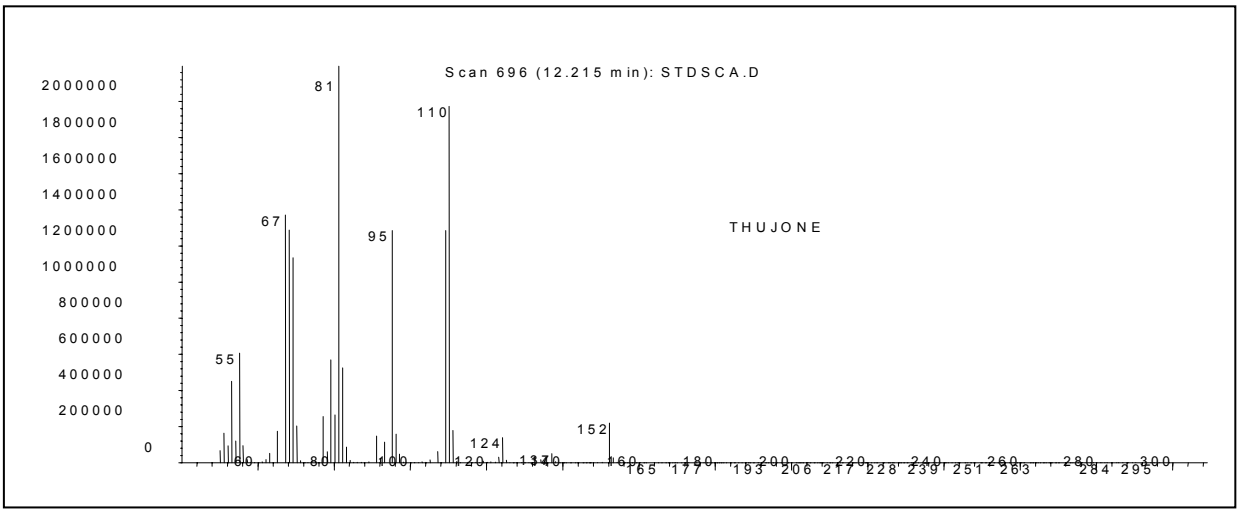
Při vlastním stanovení thujonu byla užita metoda plynové chromatografie v kombinaci s hmotnostním detektorem (GC/MS) v SIM módu

kolona: DB5MS (60x0,25x0,3)
nosný plyn: Helium
teplota nástřiku: 250°C
teplotní program: 60°C (2 min)→10°C/min do 160°C→5°C/min do 220°C
průtok 1ml/min
sledované m/z: 55, 67, 81, 95, 110 a **152**

STANDARD –THUJON (1,19 μg/ml)



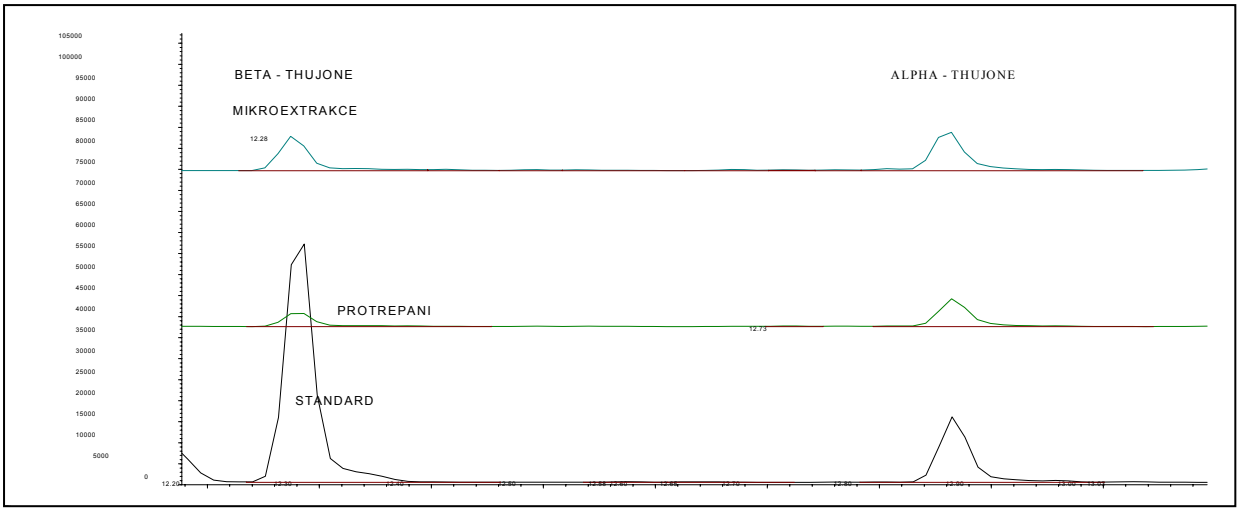
SPEKTRUM THUJONU
(α a β thujon mají shodné spektrum)



<u>Pro izolaci thujonu ze vzorku byly ověřeny tři extrakční postupy:</u>

Protřepání 5 ml absinthu s 1 ml isooktanu
Protřepání 5 ml absinthu s 1 ml isooktanu s přídavkem 3 g NaCl
Technika mikroextrakce (5ml Absinthu + 250ml redest. vody + 1ml isooktanu)

SROVNÁNÍ PROTŘEPÁNÍ A MIKROEXTRAKCE U REÁLNÉHO VZORKU



ZÁVĚR

Z hlediska úrovně přečištění jsou všechny tři testované postupy extrakce zhruba srovnatelné
Z hlediska výtěžnosti je nejúčinnější metoda mikroextrakce, kdy je dosaženo výtěžnosti 85% oproti metodě protřepání (výtěžnost zhruba 40%), což vede ke snížení detekčního limitu
Přídavek soli nemá na výtěžnost žádný výrazný vliv, pouze dochází k omezení tvorby emulzí
Při vlastním analytickém stanovení je třeba vzít v úvahu dva faktory :

vzhledem k tomu že fenchon má retenční čas velmi blízko β - thujonu a stejná m/z jako β a α thujon je nutné dát si pozor na záměnu píků
směsné standardy (α a β) dostupné na našem trhu mají obvykle opačný poměr jednotlivých izomerů oproti reálným vzorkům, z čehož vyplývá potřeba ředit standardy pro kalibrační křivky ve dvou koncentračních rozsazích.

TVORBA LYSINOALANINU V BÍLKOVINÁCH ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU

Standara S.
Česká zemědělská a potravinářská inspekce , Brno, Květná 15, 603 00 Brno

Pro technologické a kulinární zpracování poživatin s vysokým obsahem bílkovin je charakteristická tepelná úprava. Touto úpravou se dosahuje lepší stravitelnost, prodloužení skladovatelnosti a inaktivace nežádoucích enzymů. Bílkoviny získávané ve formě isolátů nebo koncentrátů z různých rostlinných nebo živočišných zdrojů jsou v současné době zejména užívány k doplnění nebo nahrazení bílkovin masa.V průmyslové výrobě bílkovinných isolátů se osvědčilo použití alkálií se současným ohřevem.Méně šetrné technologické postupy často ovlivňují potraviny nutričně i toxikologicky. Teploty, které působí po dlouhou dobu a vyšší hodnoty pH poškozují nejsnáze aminokyseliny obsahující síru, nejvíce cystin. Při vyšších hodnotách pH se zjistily nejen ztráty cystinu, ale i serinu, threoninu, lysinu a dalších aminokyselin. Dochází k příčnému zesítění polypeptidových řetězců bílkovinné molekuly, přičemž vznikají xenobiotické aminokyseliny jako jsou lysinoalanin (LAL), ornithinoalanin, lanthionin a další. Z těchto aminokyselin je zhoršená stravitelnost a snížení biologické hodnoty připisována zejména LAL.
LAL (N- ε - (DL-2- amino- 2- karboxyethyl - L- lysin) je zkřížená aminokyselina, která vzniká reakcí ε- aminoskupiny lysinového zbytku s dvojnou vazbou dehydroalaninového zbytku, vzniklého ze serinu nebo cystinu β- eliminací.

Důsledkem tvorby LAL je snížení výživové hodnoty poživatin jednak ztrátou esenciálních aminokyselin, jednak z důvodů vyšší rezistence vzniklých vazeb vůči proteolytickým enzymům (Velíšek a Pokorný, 1992). Tvorba LAL závisí nejen na tepelném působení a pH, ale i na charakteru bílkoviny (Krkošková et.al, 1988).

Relativně snadná tvorba LAL přispěla k rozhodnutí brát obsah LAL jako marker poškození proteinu. Hodnota 50 mg/kg se považuje za hraniční hodnotu obsahu LAL v proteinu, kdy se soudí, že protein ještě není významně poškozen působením tepla nebo alkáliemi (Finley, 1983).

LAL je sledován i z hlediska biologického působení. Je nefrotoxický, má za následek nefrocytomegalické změny v organizmu.(Miko et al., 1988) . Má silnou schopnost tvořit cheláty s kovy a inhibuje biologickou aktivitu metaloenzymů (Pearce a Friedman, 1988). V Holandsku byly pro výrobky z bílkovin navrženy limitní koncentrace 550 mg/kg pro LAL vázaný na bílkoviny a 10 mg/kg pro volný LAL (Fritch, 1984).
Negativní vliv na kvalitu potravin spojený s toxickým působením vedl k požadavku sledovat LAL v různých druzích potravin. Cílem práce bylo ověřit mléčné výrobky z hlediska tvorby LAL zejména v oblasti zvláštní výživy pro kojeneckou výživu, mléčných výrobků široké spotřeby a rostlinných a živočišných hydrolyzátů a dalších surovin užívaných ve výrobě potravin, případně přispět i k posouzení zdravotních rizik konsumace potravin s různými obsahy LAL pro odlišné skupiny konsumentů.

Materiál a metodika

LAL byl ve vzorcích stanoven dříve popsanou metodou (Standara,1993) kapalinové chromatografie na ionexu OSTION LGANB (kolona 250 x 3,7 mm, AAA Mikrotechna 339 M) po postkolonové derivatizaci ninhydrinem se spektrofotometrickou detekcí při 520 nm. LAL byl eluován 0,6 M sodnocitrátovým pufrem pH = 4,5 , průtok 15 ml/hod, teplota kolony 50° C. Mez stanovitelnosti metody byla 3 mg LAL/kg pro vzorek, výtěžnost se pohybovala od 85 % do 107 % pro hladiny koncentrací 50 – 1000 mg/kg.
LAL byl z bílkovin uvolněn hydrolýzou v 6 M HCl při 145° C po dobu 4 hodin, volný LAL byl ze vzorku extrahován 5 % kyselinou trichloroctovou.Vzorky byly komerční výrobky z českého trhu

(zvláštní výživa, sýry, mléčné výrobky, ochucovadla) nebo technologické suroviny získané v letech 1999 až 2000. Jako standard byl užit LAL dihydrochlorid (Sigma).

Výsledky a diskuse

Vzhledem k vysoké schopnosti mléčné bílkoviny tvořit LAL lze očekávat zvýšený obsah LAL v mléčných výrobcích. Zatížení mléčných výrobků a výrobků z mléčných bílkovin LAL je v Tab. 1

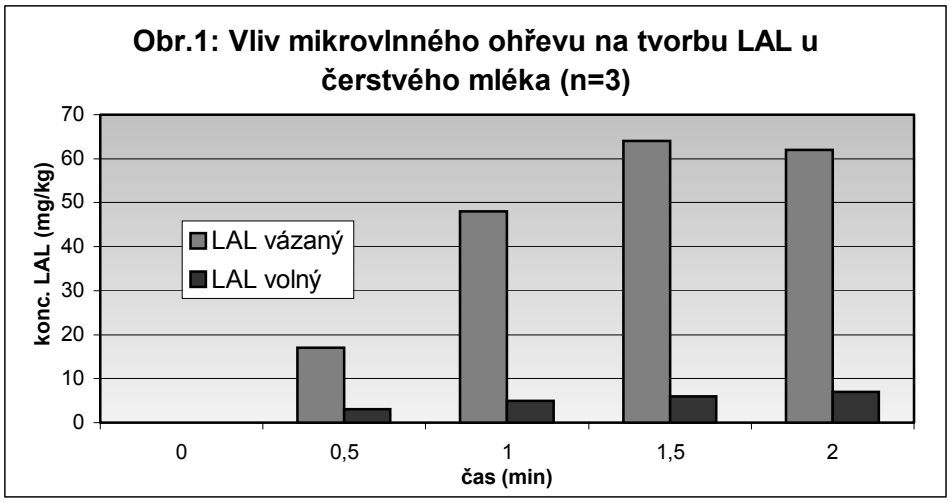
Tab.1: Obsah LAL v mléčných výrobcích

vzorek	n	LAL(mg/kg)	
		X	rozsah
A: mléko a smetana			
pasterované čerstvé mléko	3	< 3	< 3
UHT mléko	3	13	< 3 - 22
kondenzované mléko neslazené	3	223	178 - 264
slazená smetana zahuštěná	2	176	130 - 221
prášková smetana do kávy	2	34	27 - 41
sušené mléko	3	103	32 - 181
B: sýry			
Mozzarella	2	2	< 3 - 4
Čedar přírodní	2	3	< 3 - 6
Čedar tavený plátkový	3	93	36 - 178
tavený sýr (3 druhy)	3	116	24 - 176
toastový sýr (3 druhy)	3	29	19 - 38

Podle očekávání nebyl LAL prokázán v pasterovaném čerstvém mléce. Extremně nízké hodnoty byly zjištěny u výrobků zpracovaných technikou UHT. Obdobné hodnoty UHT mléka byly zjištěny v Německu u vzorků podrobených nepřímému ohřevu (Fritch ,1984). Nízké hodnoty LAL byly nalezeny i u stravy pro kojence zpracované UHT technikou (Suhaj a Kováč, 1996). U výrobků sterilizovaných v autoklávu (smetana, kondensované mléko vyšší obsah LAL je v souladu s literárními údaji (Fritch a Klostermayer, 1981) přičemž je uváděn lineární růst tvorby LAL s dobou ohřevu a teplotou. Práškové výrobky z mléka obsahovaly jen nízké hodnoty LAL. Tepelný stres vede sice ke ztrátě lysinu v důsledku Maillardovy reakce, ale zřejmě není tak velký, aby způsobil masivní příčné zesítění za vzniku LAL.

U sýrů tepelné zpracování tavením zvyšuje obsah LAL. U sýrů typu Mozzarella a Čedar lze podle obsahu LAL odlišit originální výrobky od imitací (Pellegrino et al, 1996). Imitace na rozdíl od pravých výrobků mají vyšší obsah LAL, a to nad 15 mg /kg (Suhaj a Kováč, 1998).

. Podobně jako u výrobků pro kojence zpracované technikou UHT , byly nalezeny zvýšené hodnoty LAL u mléka podrobeného mikrovlnnému ohřevu (Obr. 1).



Již krátkodobé zahřátí pasterovaného mléka při 50 % výkonu obvyklých mikrovlnných trub vede k tvorbě LAL. Prakticky 1minutový ohřev 100 ml vzorku v komerční mikrovlnné troubě je dostatečná doba pro tvorbu zvýšených hladin LAL. Byla prokázána přítomnost volného LAL, který se jinak vyskytuje u vzorků z mléčných bílkovin s obsahem LAL vázaného v bílkovinách až při hodnotách desetitisíce mg/kg (Fritch, 1984). I když hodnoty volného LAL jsou blízké mezi stanovitelnosti , volný LAL byl prokázán opakovaně a jeho koncentrace dosáhla až návrhu limitní hodnoty. Přítomnost volného LAL na stejných hladinách koncentrací jsme prokázali i při mikrovlnném ohřevu dětské výživy Sunaru připraveného dle návodu výrobce.

Výsledky ze screeningu LAL v kojenecké a dětské výživě jsou v Tab. 2. Na rozdíl od literárních údajů uvádějících hodnoty i nad 300 mg/kg (Antila et al., 1987) , byly stanoveny nízké hodnoty LAL, a to i u i výrobků obsahujících syrovátku. Hodnota 50 mg/kg charakterizující poškození proteinu byla překročena jen u výrobku obsahujícího sojové proteiny. Nález dříve uváděných zvýšených hladin LAL je možné připsat interferencím při stanovení LAL a tak zkreslení obsahů LAL v dětské výživě.

Tab.2: Obsah LAL v mléčné kojenecké výživě

vzorek	n	LAL(mg/kg)	
		X	rozsah
Nutrilon Forte	3	18	11 - 26
Nutrilon Low Lactose	3	27	19 - 35
Nutrilon Soya	3	55	44 - 68
Sunar Baby	3	13	<3 - 27
Sunar	3	33	22 - 46
Sunarka	3	18	<3 - 32
Sunarka bezlepková	3	14	<3 - 29
Milumil 2	2	32	19 - 45
Hamilon Start	2	13	9 - 17
Hamilon Forte	3	15	11 - 21

Obsah LAL ve vzorcích surovin podrobených tepelnému resp. alkalickému opracování užívaných k dalšímu zpracování nebo výrobků z nich je v Tab. 3.

Tab.3: Obsah LAL ve vzorcích surovin

vzorek	n	LAL(mg/kg)	
		X	rozsah
vitální kvasnice	3	39	<3 - 96
kvasnicový extrakt	2	266	250 - 281
CHKK hovězí krev	3	92	19 - 160
koagulát jatečné krve	2	530	412 - 648
kazeínový hydrolyzát kyselý	2	209	201 - 217
kazeinát sodný	2	1547	1080 - 2014
kazeinát vápenatý	2	1156	921 - 1390
sojový hydrolyzát	2	1345	648 - 2042
sojový koncentrát	1	165	165
worcester omáčka	1	665	665
sojová omáčka	2	705	598 - 812

U produktů z mléčných bílkovin jako jsou kazeináty, jsme ve srovnání s literárními údaji (Velíšek a Pokorný ,1992) nalezli obsahy LAL na stejných hladinách koncentrací (kyselé kazeináty) nebo i na nižších hladinách (alkalické kazeináty). Nálezy obecně vyšších hodnot LAL u alkalických kazeinátů jsou objasňovány technologickými příčinami, ke stanovení vyšších hladin mohou přispívat i interference. Kazeináty s vyšším obsahem LAL vznikají v případech , kdy se kvůli úspoře času kazein smísí s louhem bez postupného dávkování a je na delší dobu vystaven přinejmenším lokálnímu působení vysokého pH a teplot nad 100 ° C. (Fritch, 1984).

Obsah LAL v produktech ze soji, které byly podrobeny hydrolýze, byl srovnatelný s obsahem LAL v kazeinátech. Sojový koncentrát na rozdíl od hydrolyzátů obsahoval jen nízké hodnoty LAL. Vzhledem k užití hydrolyzátů v ochucovacích přípravcích je obsah LAL v těchto produktech relativně vysoký, protože však jejich užití při konsumaci potravin je malé zatížení spotřebitele je nízké.

Užitím produktů ze soji a krevních preparátů v masné výrobě dochází sice ke snížení výživové hodnoty výrobku, při obvyklých technologických dávkách by však navržená limitní hodnota 550 mg /kg LAL vázaného na bílkoviny neměla být překročena.

Závěr

Provedená studie navázala na dřívější poznatky získané při ověřování metody stanovení LAL a byla koncipována tak, aby výsledky mohly být využity při kontrolní činnosti ČZPI .

Studie ověřila možnost použití LAL jako markeru pro průkaz falšování sýrů Čedar a Mozzarella. U masných výrobků zvýšený obsah LAL může svědčit jako podpůrný důkaz užití hydrolyzátů zejména sójového.Obecně je důležité zjištění tvorby volného LAL při užití mikrovlnné technologie při ohřívání mléka. Zejména ohřívání kojenecké výživy uvedeným způsobem je nevhodné z hlediska možných zdravotních rizik.Komerční kojenecká a dětská výživa analyzovaná ve studii obsahovala jen nízké hladiny LAL, zvýšený obsah LAL uváděný v literatuře jsme nepotvrdili.

LITERATURA

ANTILA,P.-PULLINEN,E.-ANTILA,V.:The formation and determination of lysinoalanine in foods containing milk protein, Meijirititeellinen Aikakauskirja, 45 (1), 1987, s. 1 – 18. In: FSTA, 4A 56 (1988)

FINLEY,J.W.: Lysinoalanine formation in severely treated proteins, ACS Symposium Series, 234, 1983, s. 203 – 220

FRITCH,R.J.- KLOSTERMEYER,H.: The occurence of lysinoalanine in foods containing milk protein, Zeitsch. Lebensm. Untersuch. Forsch., 172 (6), 1981, s. 440 – 445
FRITCH,R.: Lysinoalanin- Analytik, Entstehen und Vorkommen in milchweisshaltigen Lebebnsmitteln, Ernaehrung/Nutrition, 8 (9), 1984, s. 532 - 537
KRKOŠKOVÁ,B.- KUNOVÁ,Z.- ŠPITÁLNÍKOVÁ,L.: Aminokyselinové zloženie koagulátov jatočnej krvi, Bulletin PV (Bratislava), 27 (3 –4), 1988, s.499 – 504
MIKO,M.-JANÍČEK,G.-KAJABA,I.:Základy výživy, SVŠT-CHTF,Bratislava,1988,328s.
PEARCE,K.N.-FRIEDMAN,M.: Binding of copper (II) and metal ions by lysinoalanine and related compounds and its significance for food safety, J.Agric.Food Chem. , 36, 1988, s. 707 –717
PELLEGRINO,L.- RESMINI,P.-DE NONI,I.- MASSOTTI,Z.: Sensitive determination of lysinoalanine distinguishing natural from imitation Mozzarella cheese, J.Dairy Sci., 79, 1996, s. 725 – 734
STANDARA,S.: Stanovení lysinoalaninu (LAL) v mléčných výrobcích a produktech z mléčných bílkovin. In: XXIV. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin, 19.5. – 21.5. 1993, Skalský Dvůr, s. 23 – 24
SUHAJ,M.- KOVÁČ,M.: Prírodné toxikanty a antinutričné látky v potravinách, VÚP, Bratislava, 1996, 140 s.
SUHAJ,M.- KOVÁČ,M.: Metódy identifikácie falšovania a autentifikácie potravín, VÚP Bratislava, 1998, 210 s.
VELÍŠEK,J.- POKORNÝ,J.: Antinutričné a toxické látky vznikající v potravinách reakcemi základních živin, Potr. Vědy, 10 (1), 1992, s. 59 - 79

ANALÝZA ESTERŮ CHLORPROPANOLŮ METODOU GC/MS

Svejkovská B., Doležal M., Velíšek J.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Abstrakt
Práce využívá nového typu kolony DB-1HT pro analýzy plynovou chromatografií za vysokých teplot. Přímou analýzou vzorku lipidů pomocí GC/MS lze zjistit zastoupení volných mastných kyselin, monoacylglycerolů, diacylglycerolů i triacylglycerolů.
Byly syntetizovány estery palmitové, stearové, olejové a linolové kyseliny odvozené od 3-chlor-1,2-propandiolu (3-CPD) a analyzovány nederivatizované metodou GC/MS. Hmotnostní spektra chlorovaných 1-monoesterů a 2-monoesterů 3-CPD byla získaná směsná, neboť se tyto látky na koloně ne úplně rozdělily. Na koloně se dobře separovaly směsné chlorované diacylglyceroly obsahující kyselinu palmitovou a některou další výše uvedenou mastnou osmnáctiuhlíkatou kyselinu, takže mohly být získány jejich hmotnostní spektra.

Klíčová slova: monoestery chlorpropanolu, diestery chlorpropanolu, GC/MS

1. Úvod

V roce 1978 byly nalezeny nové chlorované sloučeniny izolované z hydrolyzátu bílkovin a to 3-chlorpropan-1-ol, 1,3-dichlorpropan-2-ol a 2,3-dichlorpropan-1-ol, které byly identifikovány hmotnostní spektrometrií. V roce 1980 pak byly zjištěny estery 1,3-dichlorpropan-2-olu a 1-estery a diestery 3-chlorpropan-1,2-diolu z tuku extrahovaného z bílkovinného hydrolyzátu.

Byly publikovány tři výskyty těchto esterů. Za prvé, jak bylo uvedeno výše, v hydrolyzátech bílkovin a odpadních huminech vznikajících při jejich výrobě, kde je obsah těchto látek mnohem vyšší. Za druhé v roce 1981 byly nalezeny v kontaminovaných španělských olejích. Toxicita těchto olejů byla způsobena právě těmito estery, které vznikly tím, že olej obsahující 2 % anilinu „byl dekontaminován“ kyselinou chlorovodíkovou (Gardner e*t al.*, 1983). Za třetí byly v roce 1984 identifikovány v kozím mléce, kde byly vázané mastné kyseliny kaprinová, laurová, myristová, palmitová, stearová a olejová (Kuksis e*t al.*, 1986). Není dodnes zcela jasné, zda tyto látky pocházely z chlorovaných dezinfekčních prostředků nebo zda vznikly biosyntézou.

Byla prokázána toxicita zmíněných látek. V roce 1982 byla zjišťována mutagenita 3-CPD a jejich esterů. Provedla se na druhu *Salmonella typhimurium* s a bez metabolické aktivity a ukázala, že se měnila aktivita tohoto druhu s rostoucím obsahem 3-CPD. Menší změny prokazovaly jeho estery s palmitovou a olejovou kyselinou (Šilhánková e*t al.*, 1982). 5. dubna 2002 Scientific Comittee for Food EU stanovil limit 3-CPD pro sójové omáčky a bílkovinné hydrolyzáty 0,02 mg/kg a toto množství od 1. dubna 2002 platí také v České republice podle vyhlášky č. 53/2002.

Estery chlorpropanolů vznikají reakcí triacylglycerolů s kyselinou chlorovodíkovou, kde se uplatňuje mechanismus nukleofilní substituce, které předchází parciální hydrolýza triacylglycerolu za vzniku 1,3- a 1,2-diacylglycerolů a intramolekulární interakce jedné z esterových skupin s hydroxylovou skupinou za vzniku cyklického karbokationtu s následnou substitucí chloridovým aniontem. Tvoří se zde diestery 3-CPD a 2-CPD a to s převahou zejména diesterů s 3-CPD, neboť se zde uplatňuje sterický a elektronový vliv koncové esterové skupiny, která usměrňuje substituci na uhlík methylenové skupiny (Collier e*t al.*, 1991).

Cílem této práce bylo syntetizovat estery 3-CPD a to s palmitovou, stearovou, olejovou a linolovou kyselinou, rozdělit je na koloně s možností vysokého teplotního zatížení (t_{max} = 400 °C) bez předchozí derivatizace a získat jejich hmotnostní spektra.

2. Experimentální část

2.1. Syntéza esterů chlorpropanolů

1,5 mmol chloridu mastné kyseliny rozpuštěný v suchém diethyletheru byl opatrně přikapáván k 1,5 mmol 3-CPD rozpuštěnému v suchém pyridinu. Reakční směs se nechala reagovat minimálně 12 h při laboratorní teplotě. (Kraft e*t al*., 1979)

Tato směs byla promývána 1M HCl, poté vodou do neutrální reakce, která byla testována indikátorovým papírkem. Pak byla směs promývána nasyceným roztokem $NaHCO_3$ a nakonec opět vodou do okamžiku neutrální reakce. Diethyletherová fáze byla přesušena přes bezvodý Na_2SO_4 a odpařena do sucha. Alikvotní část byla rozpuštěna v hexanu a analyzována GC/MS.

2.2. Analýza na GC/MS

Rozbor byl prováděn na plynovém chromatografu Agilent Technologies 6890N s hmotnostním spektrometrem Agilent Technologies 5973N (iontový zdroj: 70 eV), jako nosný plyn bylo použito helium.

Teplotní program byl zahájen na počáteční teplotě 100 °C, s teplotním gradientem 10 °C/min, konečnou teplotou 340 °C. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,7 $ml.min^{-1}$. Doba analýzy trvala 50 min. Teplota injektoru byla navolena na 300 °C a teplota detektorového transferu na 340 °C, dělící poměr zadán na hodnotu 1:4.

3. Výsledky a diskuse

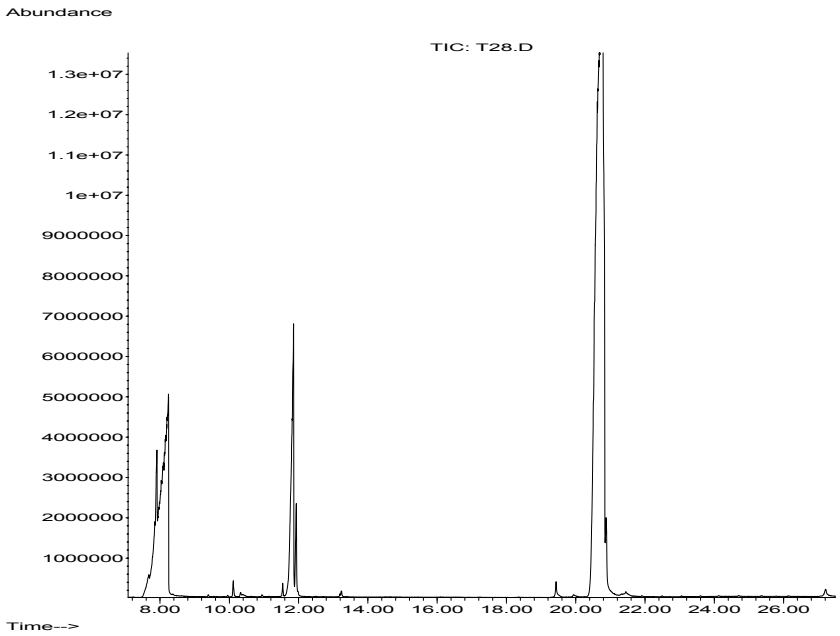
Obr. 1 spolu se svým popisem v **tab. 1** ukazuje, že monoestery dichlorované se eluují před monochlorovanými a 1- a 2-isomery monoesteru 3-CPD se dělí pouze částečně. Bylo zjištěno, že estery 3-CPD se vymývají v pořadí kyselina palmitová < linolová < olejová < stearová. Spektra 3-chlorpropan-1,2-diol-1-palmitátu a 3-chlorpropan-1,2-dioldipalmitátu jsou zobrazeny na **obr. 2** a **obr. 3**, **v tab. II** zapsány fragmenty ze spekter.

Základním píkem ve spektru 3-CPD-1-Pa je *m/z* 98, na jehož strukturu jsou dva názory. První jej popisuje jako $[\ -CH{=}CH{-}CH_2OCO(CH_2)_n{-}\ ]^+$ (Waller, 1972) a druhý jako cyklický ion $[RCO\text{-}14n]^+$ (Kraft e*t al.*, 1979). Charakteristickým píkem ve spektru 3-CPDdiPa je *m/z* 239 $[RCO]^+$. K identifikaci esterů chlorpropanolů slouží především chlorované fragmenty. Ve spektru 3-CPD-1-Pa vzniká ion *m/z* 152 $[Cl + 117]^+$, který se tvoří přes McLaffertyho přesmyk, v němž zůstane zachovaný glycerolový skelet. Vinylový fragment *m/z* 165 $[Cl + 130]^+$ vznikající z enolformy molekulového iontu je energeticky podporován allylovým štěpením. Z těchto iontů odštěpením vody vzniknou fragmenty *m/z* 134 $[Cl + 99]^+$ a *m/z* 147 $[Cl + 112]^+$ (Kraft e*t al.*, 1979). Spektra 3-CPD-1-Pa a 3-CPD-2-Pa se teoreticky liší v přítomnosti iontů *m/z* 270 $[RCO + 31]^+$ a *m/z* 299 $[M - CH_2Cl]^+$ u 3-CPD-1-Pa a iontů *m/z* 255 $[RCOO]^+$ a *m/z* 317 $[M - CH_2OH]^+$ u 3-CPD-2-Pa, ale vzhledem k nedokonalému rozdělení obou isomerů jsou získána směsná spektra a rozdíl je tudíž minimální. Ve spektru 3-CPDdiPa byly nalezeny chlorované ionty *m/z* 147 $[Cl + 112]^+$ a *m/z* 134 $[Cl + 99]^+$, které vznikly eliminací RCOOH a štěpením alkylového řetězce (Kraft e*t al.,* 1979). Spektra těchto látek odpovídají obecně spektrům s chlorovanými sloučeninami, tj. obsahující isotopické klastry chloru.

4. Závěr

Každá sloučenina má svoje charakteristické hmotnostní spektrum něco podobného jako „otisk prstů“ pro identifikaci lidí. Proto poznání spekter sloučenin je důležitou součástí analytické chemie dnešních dnů.

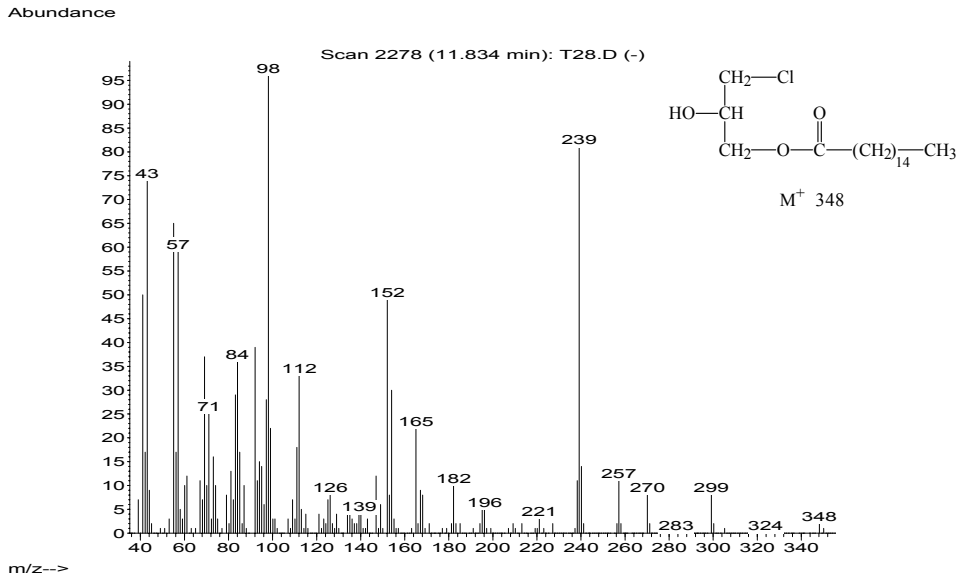
Použitá literatura
Collier P.D., Cromie D.D.O:, Davies A.P.: J. Am. Oil Chem. Soc., **68**: 785-790 (1991)
Gardner A.M., Yurawecz M.P., Cunningham WC, Diachenko G.H.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., **31**: 625-623 (1983)
Kraft R., Brachwitz H., Etzold G., Langen P., Zöpel H.J.: J. prakt. Chem. 321, 756-768 (1979)
Kuksis A., Marai L., Myher J.J., Cerbulis J., Farrel Jr H.M.: Lipids, **21**: 183-190 (1986)
Šilhánková L., Šmíd F., Černá M., Davídek J., Velíšek J.: Mutation Research, **103**: 77-81 (1982)
Waller G.R., v knize Biochemical Applications of Spectrometry, John Wiley & Sons, Inc., 234 USA (1972)



Obrázek 1: Chromatogram reakční směsi 3-CPD s palmitoylchloridem získaný z GC/MS

Tabulka I: Popis sloučenin v chromatogramu na Obr. 1

Č. píku	Retenční čas (min)	Sloučenina
1	8,24	kyselina palmitová
2	10,12	3-chlorpropan-1,2-diol-1-myristát
3	11,54	1,3-dichlorpropan-2-olpalmitát
4	11,85	3-chlorpropan-1,2-diol-1-palmitát
5	11,93	3-chlorpropan-1,2-diol-2-palmitát
6	13,23	3-chlorpropan-1,2-diol-1-stearát
7	19,43	3-chlorpropan-1,2-diolmyristátstearát
8	20,78	3-chlorpropan-1,2-dioldipalmitát
9	21,45	3-chlorpropan-1,2-diolpalmitátstearát
10	27,21	tripalmitin



Obrázek 2: Hmotnostní spektrum 3-chlor-1,2-propandiol-1-palmitátu (3-CPD-1-Pa)

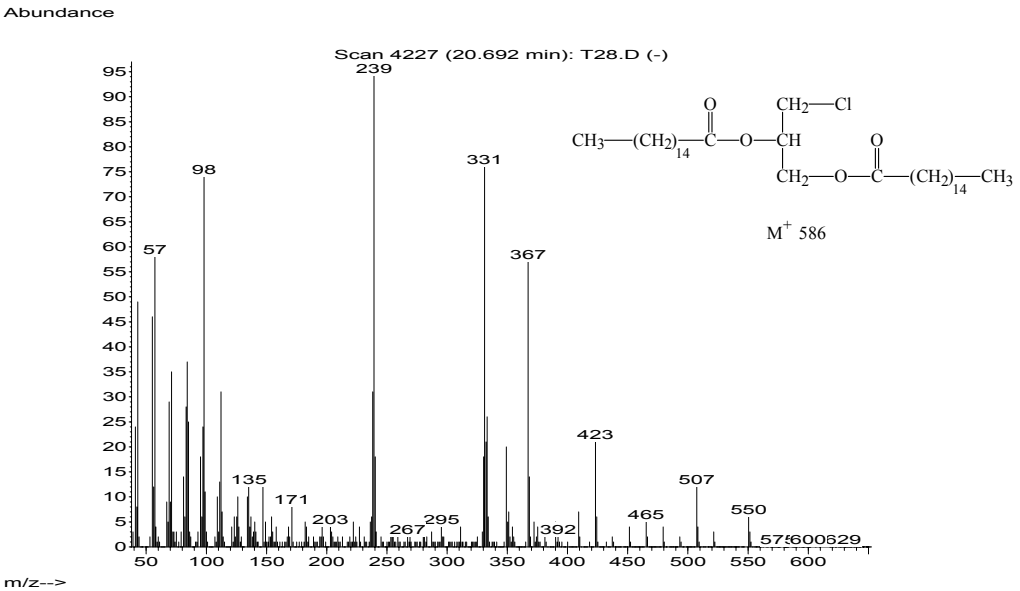
Tabulka II: Fragmenty z hmotnostních spekter sloučenin 3-CPD-1-Pa a 3-CPDdiPa

Ion	3-CPD-1-Pa		3-CPDdiPa	
	m/z	%	*m/z*	%
M	348	2	586	-
M-HCl	-	-	550	6
McL	-	-	390	5
RCO + 128 [a)]	-	-	367	57
M - CH_2Cl	299	7	-	-
RCO + 31	270	8	-	-
RCOO + 2H	257	11	257	1
M - RCO + 2H	-	-	349	20
M - RCOO	-	-	331	76
RCO	239	76	239	100
Cl + 130	165	22	-	-
Cl + 117	152	49	-	-
Cl +112	147	12	147	12
Cl + 99	134	5	134	10
? [b)]	98	100	98	74

[a)] homologická řada $[RCO + 128 + 14n]^+$

n=1 (381; 4), n=2 (395; 1), n=3 (409; 7), n=4 (423; 21), n=5 (437; 2), n=6 (451; 4), n=7 (465; 5), n=8 (479; 4), n=9 (493; 2), n=10 (507; 12), n=11 (521; 3)

[b)] viz diskuse



Obrázek 3: Hmotnostní spektrum 3-chlor-1,2-propandioldipalmitátu (3-CPDdiPa)

ANTIOXIDANTY A JEJICH VLIV NA LIDSKÉ ZDRAVÍ

Poláková M.[1], Márová I.[1], Hiemer J.[1], Kotrla R.[2], Valášek P.[3], Drdák M.[1]
1-FCH VUT Brno, Purkyňova 118, Brno
2-Okresní nemocnice Kyjov, Strážovská 976, Kyjov
3-Intercaps spol. s r.o.Zlín., Filmová 174, Zlín

Názvem vitamín C je označována nejen kyselina L-askorbová, ale také celý reversibilní oxidačně-redukční systém, který zahrnuje kyselinu L-askorbovou, L-askorbylradikál a kyselinu L-dehydroaskorbovou. Jedná se o nejsilnější biologický redoxní systém. Většina živočichů dokáže kyselinu askorbovou syntetizovat z glukosy, ovšem někteří živočichové včetně člověka tuto schopnost během evoluce ztratili (chybí jim koncový enzym syntézy gulonolaktonoxidasa). Kyselina askorbová je významný extracelulární a intracelulární antioxidant. Je schopna z prostředí vychytávat hydroxylový, superoxidový, peroxilový, alkoxylový a alkylsulfonylový radikál, zháší singletový kyslík. Velmi významné je působení kyseliny askorbové na rozhraní cytosol-membrána, kde regeneruje tokoferylový radikál a inhibuje lipoperoxidaci. Kyselina askorbová působí jako modulátor mutagenese a karcinogenese. Nedostatek kyseliny askorbové způsobuje onemocnění zvané skorbut (kurděje).

Názvem vitamín E označujeme skupinu látek, které vykazují aktivitu α-tokoferolu. Do této skupiny patří osm derivátů. Strukturním základem těchto látek jsou tokol a tokotrienol, které obsahují chromanový cyklus s nasyceným nebo nenasyceným postranním isoprenoidovým řetězcem složeným z šesti uhlíků. Vitamín E je významným lipofilním antioxidantem uplatňujícím se v eukaryotických buňkách jako ochrana nenasycených mastných kyselin před poškozením ze strany volných radikálů. Spolu s β-karotenem a ubichinony chrání strukturu a integritu biomembrán. Uplatňuje se také při ochraně lipoproteinů v plazmě. Reakcí s volnými radikály se α-tokoferol mění na poměrně stabilní α-tokoferylový radikál. Tokoferylový radikál je následně regenerován a to většinou reakcí s kyselinou askorbovou, ubichinony nebo glutathionem. Přesná fyziologická funkce u člověka není dosud objasněna. Vitamín E se uplatňuje v léčbě poinfarktových stavů, urychluje hojení ran, jeho podávání předčasně narozeným dětem může potlačit hemolytický syndrom, podávání vitamínu E starším lidem zlepšuje jejich imunitní systém. Vyšší spotřeba vitamínu E je u lidí pijících chlorovanou vodu.

Karotenoidy jsou velmi rozšířenou skupinou žlutých, oranžových výjimečně žluto-zelených a červených lipofilních pigmentů. Dnes je známo asi 700 přirozeně se vyskytujících karotenoidových pigmentů. Většina karotenoidů se řadí mezi terpeny s osmi isoprenovými jednotkami. Aktivitu provitamínu A vykazuje přibližně padesát přirozeně se vyskytujících karotenoidů, nejvýznamnějším je β-karoten následovaný α-karotenem. Karotenoidy působí podobně jako tokoferoly ve formě membránových antioxidantů. Karotenoidy se uplatňují především při zhášení singletového kyslíku, při vychytávání volných radikálů z tkání při nízkém parciálním tlaku, při stabilizaci volných peroxylových radikálů. Karotenoidy doplňují antioxidační působení vitamínu E, který působí při vyšších parciálních tlacích. Pro svoji antioxidační schopnost se karotenoidy uplatňují v prevenci degenerativních procesů a jako antikarcinogenní látky.

Flavonoidy jsou látky rostlinného původu, jejichž molekuly jsou tvořeny flavonovým cyklickým skeletem. Skupina flavonoidních látek zahrnuje přibližně 4 000 přirozeně se vyskytujících derivátů a jejich počet se stále rozšiřuje. Antioxidační schopnost flavonoidů vyplývá z jejich struktury (obsahují fenolové skupiny). Aby flavonoidy vykazovaly antioxidační aktivitu musí obsahovat minimálně dvě fenolové skupiny. Flavonoidové radikály jsou regenerovány podobně jako radikály vitaminu E. Výhodou flavonoidů je jejich aktivity jak v hydrofilním tak v lipofilním prostředí. Flavonoidy jsou látky inhibující lipoperoxidaci, mohou mít protinádorový, protiischemický, antialergický a protizánětlivý účinek. Některé flavonoidy inhibují myoperoxidasový systém a vážou železnaté ionty,

čímž zabraňují vzniku hydroxylového radikálu. Flavonoidy tak chrání organismus před různými onemocněními, jako je ateroskeróza a rakovina (hlavně v počáteční fázi).

Cílem předložené práce bylo vypracovat klinickou studii zaměřenou na posouzení vlivu exogenního podávání bioflavonoidů na lidský organismus.

	Kolona	**Eluce**	**Mobilní fáze**	**Teplota**	**Detekční vlnová délka**
Karotenoidy	Nucleosil C18 (4,6x150 mm)	Izokratická (1,1 ml/min)	methanol:voda (95:5)	45°C	450 nm
Vitamín C	Hypersil APS-2, NH_2 5μ (4,6x150 mm)	Izokratická (0,7 ml/min)	octan sodný:acetonitril (95:5)	30°C	254 nm
Vitamín E	Nucleosil C18 (4,6x150 mm)	Izokratická (1,1 ml/min)	methanol:voda (95:5)	45°C	289 nm
Flavonoidy	Nucleosil C18 (4,6x250 mm)	Izokratická (0,6 ml/min)	methanol:voda (50:50)	30°C	259 nm

Jednotlivé antioxidanty byly stanoveny metodou HPLC se spektrofotometrickou detekcí. Na vyhodnocení byl použit program CSW Integrator 1.7 (Data Apex)
Antioxidační kapacita byla stanovena diagnostickým setem „Total Antioxidant Status“ (TAS, Randox, USA).

Schéma navržené klinické studie, do níž bylo zařazeno celkem 40 osob, u nichž byl zkoumán vliv podávání vitamínového preparátu na vybrané metabolické parametry.

	Diagnóza	Počet osob	Suplementace
DM I	diabetes mellitus typ I	10	225 mg vitamin C, 24 mg vitamin E, 12 mg β-karoten, 100 mg bioflavonoidy, 100mg extrakt z šípku (rose hips)
DM II	diabetes mellitus typ II	10	
kontrola	-	20	

Z analyzovaných druhů ovoce běžně konzumovaných českou populací měl největší obsah vitamínu C pomeranč, nejvíce β-karotenu a α-tokoferolu obsahoval grep, nejvíce α-karotenu obsahovalo kiwi (Tab. 1).
Z analyzovaných druhů běžně konzumované zeleniny byl nejvyšší obsah vitamínu C zjištěn u brambor, brokolice a mrkve, paprika měla největší obsah luteinu, špenát vykazoval nejvyšší obsah lykopenu a β-karotenu, nejvyšší obsah α-karotenu byl zjištěn u rajčete, u celeru byl stanoven nejvyšší obsah α-tokoferolu (Tab. 2)
Hladina všech vybraných antioxidantů v séru byla u sledovaných skupin diabetiků nižší než u kontrolní skupiny. U všech skupin došlo po podávání vitaminového preparátu k navýšení sledovaných parametrů (Graf 1)
Během podávání vitaminového preparátu došlo k významnému snížení hodnot lipidového metabolismu. Dále došlo k poklesu obsahu glykovaného hemoglobinu a ke snížení obsahu kreatinu (Graf 2)
Podávání vitaminového preparátu vedlo ke zvýšení antioxidační kapacity séra (Tab. 3)

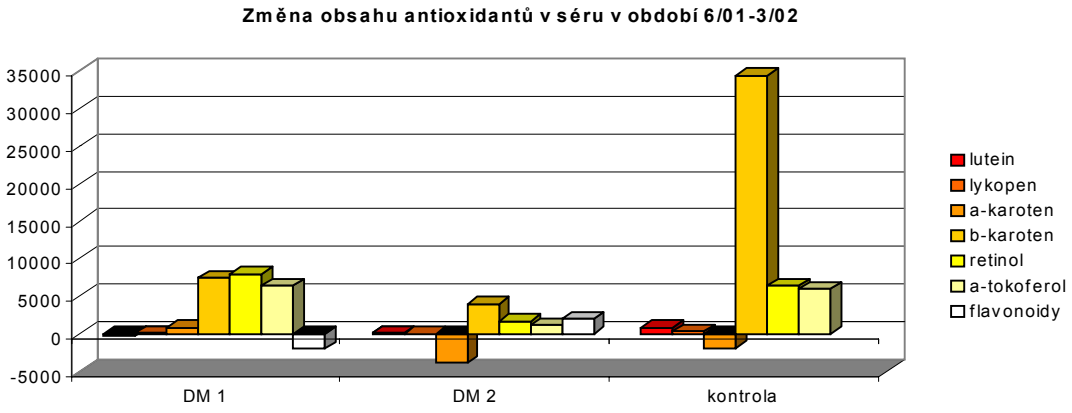
Tabulka 1: Obsah vybraných antioxidantů v běžně konzumovaném ovoci

POTRAVINA	Askorbát mg/100g	Lutein mg/100g	Lykopen mg/100g	□karoten mg/100g	□karoten mg/100g	□tokoferol mg/100g	Rutin mg/100g	Morin mg/100g	Kvercetin mg/100g
Borůvka	42,27	0,23	16,50	0,091	0,067	0,496	-	-	12,57
Grep	13,40	0,19	15,48	0,047	0,121	0,553	291,66	-	40,78
Hrozen č.	32,01	0,48	54,73	0,012	0,031	0,215	-	16,46	0,48
Hrozen z.	233,36	0,18	1,31	0,101	0,098	0,302	-	-	-
Kiwi	89,33	0,25	5,03	0,111	0,103	0,191	-	2,39	0,59
Mandarinka	11,24	0,12	0,31	0,109	0,105	0,024	55,97	-	20,92
Pomeranč	99,97	0,27	2,51	0,110	0,037	0,232	168,45	-	5,02
Ryngle	96,82	0,09	0,53	0,113	0,090	0,112	14,58	6,43	-

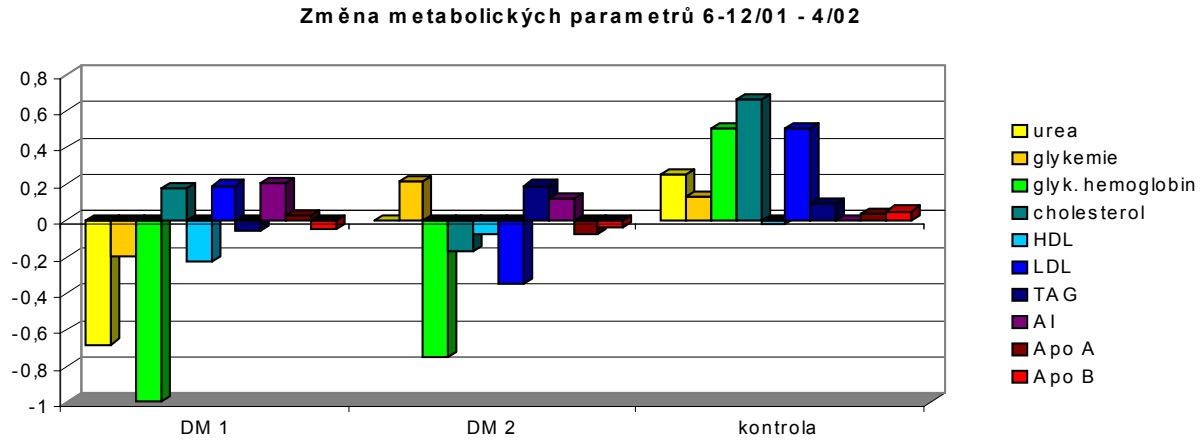
Tabulka 2: Obsah vybraných antioxidantů v běžně konzumované zelenině

POTRAVINA	Askorbát mg/100g	Lutein mg/100g	Lykopen mg/100g	Akaroten mg/100g	Bkaroten mg/100g	Atokoferol mg/100g	Rutin mg/100g	Morin mg/100g	Kvercetin mg/100g
Brambor	405,3	0,687	0,614	0,106	0,096	0,0278	-	-	0,308
Br. Vařený	167,0	-	0,316	0,096	0,053	0,0168	-	-	0,688
Brokolice	286,4	-	0,929	0,079	0,591	1,740	-	16,06	-
Čaj zelený	387,6	0,062	0,048	0,116	0,114	0,014	10,39	5,86	0,333
Celer	17,3	0,0161	-	-	-	1,933	13,21	5,87	1,324
Mrkev	219,9	0,493	1,326	0,206	2,241	0,363	25,47	11,64	1,958
Okurka	22,2	0,0766	0,349	0,113	0,0889	0,893	3,97	0,096	0,014
Paprika	158,9	7,567	253,403	0,127	2,661	0,756	25,47	2,12	1,943
Rajče	5,3	2,110	3,335	0,649	0,543	0,0343	-	-	0,392
Špenát	109,8	-	319,245	-	4,492	0,269	178,26	-	69,613
Zeli z.	24,9	-	3,916	0,113	0,092	0,0645	15,59	-	1,388
Zelí č.	76,2	-	0,0347	0,114	0,011	-	5,08	-	0,891

Graf 1: Změna hladiny vybraných antioxidantů v séru za sledované období



Graf 2: Hladiny vybraných metabolických parametrů v průběhu klinické studie. U kreatininu došlo ke snížení hodnot u DM 1 o 23,85 jednotek, u DM 2 o 23,59 jednotek a u kontrolní skupiny o 6 jednotek.



Tabulka 3: Hodnoty antioxidační kapacity séra v průběhu klinického pokusu

TAS mmol/l				
	červen	**Září**	**prosinec**	**březen**
DM I	1,140 ± 0,223	1,109 ± 0,120	1,216 ± 0,320	1,819 ± 0,210
DM II	1,202 ± 0,212	1,286 ± 0,247	1,295 ± 0,185	1,937 ± 0,155
Kontroly	1,256 ± 0,174	1,325 ± 0,164	1,287 ± 0,147	2,316 ± 0,106

V průběhu podávání preparátu došlo k poklesu parametrů lipidového metabolismu. Pokles hladiny lipidů může souviset s vyšší hladinou antioxidačního systému, která mimo jiné vede ke snížení peroxidace lipidů, zvýšení stability membrán, dále ke zlepšení funkce lipoproteinových transportních systémů a tím ke snížené progresi aterosklerózy. Dále byl zaznamenán značný pokles hladiny keratininu u obou postižených skupin osob, což by odpovídalo zlepšení ledvinových funkcí a může to mimo jiné souviset s kvalitou a funkcí bazální membrány glomerulu. Ze zjištěných výsledků je patrné, že dlouhodobé podávání kombinovaného antioxidačního preparátu může vést k úpravě většiny parametrů metabolismu lipidů.

ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI LIHOVIN

Voldřich M.[1], Ševčík R.[1], Kvasnička F.[1], Melzoch K.[2], Velíšek J.[3]
1-Ústav konzervace potravin a technologie masa, VŠCHT Praha, Technická 5 Praha 6, 166 28
2-Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5 Praha 6, 166 28
3-Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5 Praha 6, 166 28

Souhrn. V souvislosti s v poslední době populární problematikou antioxidačních vlastnosít potravin byly posuzovány antioxidační vlastnosti lihovin. Celková antioxidační aktivita nápojů byla hodnocena dvěma postupy: setem Randox (založená na inkubaci ABTS, tj. 2,2´-azino-di-3-ethylbenzthiazolin-sulfonátu s peroxidasou), na základě sumárního stanovení fenolu CITP-CZE. Z výsledků vyplynulo, že celková antioxidační aktivita je dána zejména obsahem fenolů, byla zjištěna těsná korelace mezi výsledky obou metod. Výsledky rovněž ukázaly, že lihoviny mají nezanedbatelné antioxidační vlastnosti, významným zdrojem antioxidantů jsou zejména hořké lihoviny vyrobené z extraktů z bylin (Fernet Stock 5,19, Whisky 1,19, brandy 1,88 mmol/l TAS). V komplexním porovnání se sice nevyrovnají červenému vínu (cca 10 – 16 mmol/l TAS), ale poskytnou totéž, co pivo nebo bílé víno. V porovnání s vínem mají vyváženější antioxidační účinek s doporučenou dávkou alkoholu, bylinné likéry obsahují další složky s pozitivním vlivem na trávení.

Volné radikály – látky s nepárovými elektrony jsou přirozenou složkou lidského organismu. Jejich vliv je na jedné straně pozitivní, např. bílé krvinky využívají volných radikálů hubení mikroorganismů, ničení nádorových buněk, s volnými radikály je spojeno i oplození vajíčka. Na druhé straně volné radikály poškozují biomolekuly, tvoří z mastných kyselin vázaných zejména v lipoproteinech biologických membrán hydroperoxidy, oxidují bílkoviny, poškozují DNA, vyvolávají tzv. oxidační stres. Volné radikály jsou pokládány za spolupůvodce řady onemocnění např. vzniku a průběhu diabetu, podporují stárnutí (tvorba stařeckých pigmentů), vznik očních chorob (šedého zákalu), vznik zánětů, nádorů, plicních chorob, kožních onemocnění, neurodegenerativních chorob (Parkinsnovy a Alzheimerovy choroby, poruch imunity, podporují virové infekce, podílejí se na revmatických zánětech kloubů, mohou vyvolat mužskou neplodnost. Velmi významnou roli hrají volné radikály zejména v případě aterosklerosy a při vzniku rakovinných onemocnění.

Nejvýznamnějším zdrojem volných radikálů v organismu je dýchací řetězec, při kterém za normálních okolností 98 – 99 % energie vzniká přes cytochromový systém a 1 – 2 % přes volné radikály. Biologický poločas rozpadu volných radikálů je 10^{-5} až 10^{-9} sekundy, ale jejich stabilní metabolické produkty označované jako ROS (reactive oxygen species), mezi které patří např. hydroxylový a superoxidový radikál, peroxid vodíku, singletový kyslík, kyselina chlorná a další jsou stabilnější. Volné radikály mohou v organismu vznikat také reakcemi prooxidačních látek přijímaných potravou, případně stabilní volné radikály mohou být přítomné již v potravinách (ozařované potraviny – produkty radiolýzy, žluklé tuky apod.), jsou přítomny v tabákovém kouři apod.

V organismu jsou nežádoucí volné radikály zneškodňovány reakcí s antioxidanty, látkami,které jsou schopné radikály zhášet, jejich metabolické produkty jsou potom likvidovány některými enzymy. V případě že dojde k porušení rovnováhy mezi množstvím vytvářených nebo přijímaných volných radikálů a antioxidantů, v organismu převládnou radikály, nastává oxidační stres, který vede k výše popsaným negativním zdravotním následkům. Proto je v posledních letech velká pozornost odborníků na výživu i výrobců potravin věnována antioxidantům přijímaných v potravinách.

Ochranné účinky ovoce a zeleniny a potravinářských výrobků z rostlinných surovin proti různým nemocem jsou přisuzovány řadě antioxidantů, jako jsou kyselina askorbová (vitamin C), tokoferoly a α-tokoferol (vitamin E), β-karoten (provitamin A) a karotenoidní barviva obecně, polyfenoly. Velký počet studií byl věnován zejména účinku fenolů, u kterých byl prokázán přímý vliv proti nemocem, na jejichž vzniku se podílejí volné radikály.

Antioxidační účinky vína, piva a lihovin: Pozitivní nutriční účinek červeného vína zmiňovány v souvislosti s tzv. „francouzský paradox“ je přisuzován ochrannému vlivu fenolových látek obsažených ve víně, zejména trans-resveratrolu. Antioxidační účinky bílého vína jsou vlivem nízkého obsahu této sloučeniny a flavonoidních látek nižší. Mírné antioxidační vlastností, přibližně

na úrovni bílého vína byly zjištěny také u piva, které obsahuje biologicky aktivní isoflavony řadící se do kategorie fytoestrogenů jako je genistein, biochanin A, dadzein a formononetin.
Alkoholické nápoje jsou jako zdroj antioxidantů výhodnější také z důvodu fyziologicky pozitivního vlivu ethanolu. Žádoucí účinky alkoholu (v dávce 20 – 30 g alkoholu za den) v prevenci aterosklerózy jsou přisuzovány jeho vlivu na snížení reaktivity krevních destiček, snížení koncentrace fibrinogenu v krevním oběhu, zvýšení hladiny HDL-cholesterolu a snížení LDL-cholesterolu a v souvislosti s fenoly zvýšení jejich absorpce ve střevě.
Lihoviny zejména hořké bylinné extrakty obsahují fenoly získané macerací drogy, podíl fenolů s antioxidačními účinky je možné očekávat také u vinných destilátů s přídavky bonifikátorů, zdrojem polyfenolů s antioxidačními vlastnostmi, zejména produktů degradace ligninu jsou také whisky a další destiláty zrající v sudech.
Cílem práce bylo zhodnotit antioxidační vlastnosti vybraných lihovin.

Materiál, chemikálie, metody

Vzorky: Magister (Stock Plzeň), Pepermint likér(Stock Plzeň), Brandy (Stock Plzeň), Whisky (Stock Plzeň), Fernet (Mutěnice), Fernet Citrus (Drinks Union), Fernet Stock Citrus (Stock Plzeň), Fernet Stock (Stock Plzeň), Demanovka (St. Nicolaus a.s), Fernet Jelínek (R. Jelínek), Fernet Cherry (Drinks Union), Limet (Karlovarská Becherovka), Rapid (Karlovarská Becherovka), Becherovka (Karlovarská Becherovka), Praděd (Likérka Dolany), Myslivec (Drinks Union), Fernet Citrus KB (Drinks Union), Klášterní tajemství (Drinks Union), Fernet Champion (Drinks Union);
Piva: Ležák 12°, Krušovice, Radegast Klasik, Radegast Nošovice; Vína: Műller Thurgau, Vínium a.s. Velké Pavlovice, 2000; Frankovka, Vínium a.s. Velké Pavlovice, 2000; 100% pomerančová šťáva

Metody:

1. Stanovení celkové antioxidační aktivity diagnostickou soupravou RANDOX

Princip metody

$ABTS^R$ (2,2-azino-di-3-ethylbenzthiazolin sulfonát)se inkubuje s peroxidasou (metmyoglobin) a H_2O_2 za vzniku radikálového kationtu $ABTS^R$. Tato látka má poměrně stálou modrozelenou barvu, která se měří při 600 nm. Antioxidant v přidaném vzorku brání tvorbě této látky v rozsahu, který je přímo úměrný jeho koncentraci.

$HX\text{-}Fe^{III} + H_2O_2$ --------- $X\text{-}(Fe^{IV} = O) + H_2O$
$ABTS^R + X\text{-}(Fe^{IV} = O)$ ---------- $ABTS^R + HX\text{-}Fe^{III}$
$HX\text{-}Fe^{III}$ = metmyoglobin
$X\text{-}(Fe^{IV} = O)$ = ferrylmyoglobin
$ABTS^R$ = (2,2- Azino-di-3-ethylbenzthiazolin sulfonát)

2. Stanovení frakce fenolů CITP – CZE (kombinací kapilární izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy)

Instrument :	EA 100, 90x0,8/160x0,3 mm, 254 nm (EA 100)
Vedoucí elektrolyt:	5 mM- HCl + 8 mM-BTP + 0,025% HPMC + 25% MeC
Zakončující elektrolyt:	5 mM-EACA + Ba(OH)2 + 25% MeOH
Nosný elektrolyt:	20 mM-EACA + 20 mM-BTP + 0,05% HPMC + 25% MeOH
Hnací proud:	150/100 µA//25 µA

Výsledky a diskuse

Pro kvantifikaci celkového antioxidačního účinku se využívá celé spektrum různých chemických indikátorů, nejvíce popsaná a uznávaná metoda, která je používána také v klinické biochemii, je metoda založená na inkubaci ABTS (2,2´-azino-di-3-ethylbenzthiazolin-sulfonát) s peroxidasou a peroxidem vodíku, při které vzniká relativně stálý radikál ABTS. Radikál má modrozelenou barvu, přítomné antioxidanty blokují jeho tvorbu, míra inhibice tvorby barevného radikálu je úměrná koncentraci antioxidantů. Postup je součástí komerčních setů Randox. Kromě stanovení celkové antioxidační kapacity TAS (Total Antioxidant Status) byl soubor vzorků analyzován elektromigrační technikou CITP-CZE, kombinací kapilární izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy. Elektromigrační technika umožňuje sumární stanovení sumy látek přítomných ve vzorku, které se v mírně alkalickém prostředí pohybují v elektrickém poli a absorbují v UV, tj. jedná se zejména o fenoly. V tabulce 1 je uveden přehled výsledků všech analyzovaných vzorků získaných oběma

postupy - setem Randox a CITP-CZE. Hodnoty přepočítané na „denní dávku“ odpovídají: lihoviny 0,05l, vína 0,2l, pivo 0,5 l, šťáva 0,2 l.

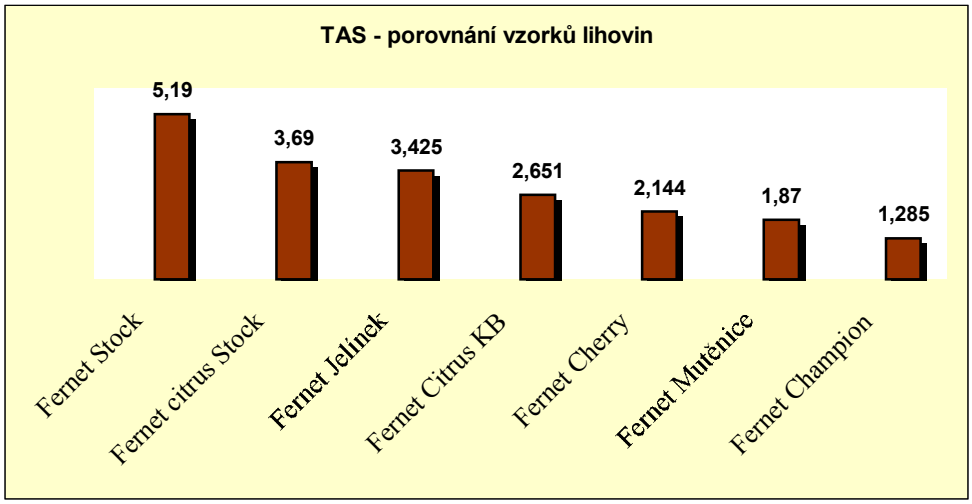
Tabulka I Antioxidační vlastnosti lihovin a dalších nápojů

Lihovina	**Celková antioxidační aktivita (TAS)(mmol/l)**	***TAS – přepočítané hodnoty na „denní dávku“***	***Sumární stanovení fenolů CITP-CZE plocha pod A_{254}(mV*s)***	***CITP-CZE fenoly, vyjádřeno jako resveratrol mmol/litr***
Fernet citrus Stock	3,69	0,18	102500	1,12
Magister	4,51	0,23	88500	0,97
Fernet Stock	5,19	0,26	139100	1,52
Pepermint likér (Zelená)	0,99	0,05	3500	0,04
Vodka	-0,08	0	1000	0,01
Brandy	1,88	0,09	32300	0,35
Whisky	1,19	0,06	17800	0,20
Fernet Mutěnice	1,87	0,09	-	-
Fernet citrus Krasné Březno	1,60	0,08	-	-
Demanovka	1,191	0,06	-	-
Fernet Jelínek	3,425	0,17	-	-
Fernet Cherry	2,144	0,11	-	-
Limet	3,633	0,18	-	-
Rapid	3,067	0,15	-	-
Becherovka	2,889	0,14	-	-
Praděd	0,807	0,04	-	-
Myslivec	0,389	0,02	-	-
Klášterní tajemství	0,149	0,01	-	-
Fernet Champion	1,285	0,06	-	-
Pivo Krušovice 12°	1,78	0,89	-	-
Pivo Radegast Klasik	1,22	0,61	-	-
Víno bílé (Müller Thurgau)	2,69	0,53	-	-
Víno červené (Frankovka)	14,95	2,99	158900	1,74
Džus Toma	1,29	0,26	-	-
0,5 mg/l resveratrol	-	-	10000	-

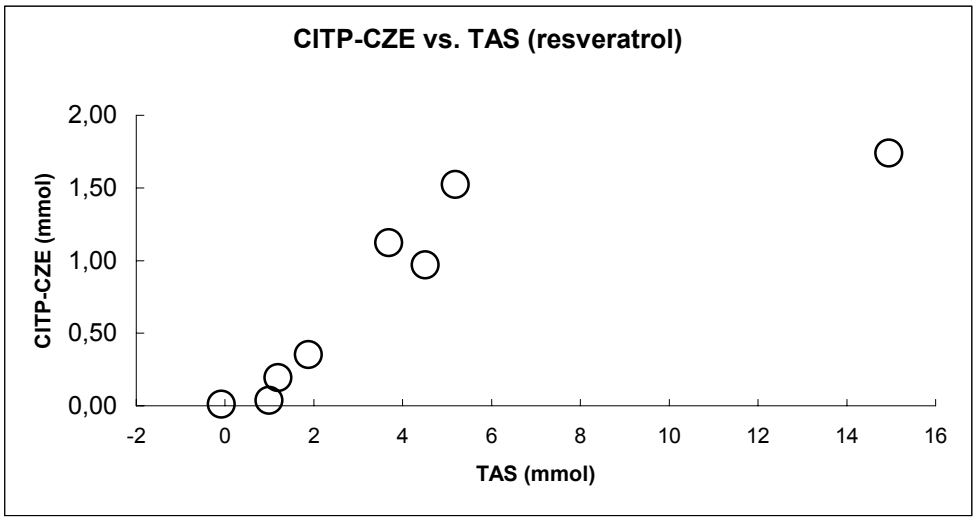
**/ Resveratrol je použit pouze pro přepočet, významné koncentrace resveratrolu se nacházejí pouze ve vzorku červeného vína, u ostatních nápojů jsou antioxidační účinky dány jinými látkami.*

Ze získaných hodnot vyplývá, že lihoviny, zejména hořké lihoviny vyrobené z extraktů z bylin, mají nezanedbatelné antioxidační vlastnosti. V komplexním porovnání se sice nevyrovnají červenému vínu, ale v „denní“ dávce poskytnou totéž, co pivo nebo bílé víno. Dalším faktorem oproti vínu je vyváženost antioxidačního účinku s doporučenou dávkou alkoholu a další pozitivní vliv na trávení. Většina hořkých likérů je dodnes chápána jako žaludeční likéry. Vinné destiláty vyrobené za použití bonifikátorů a zrající v sudech také obsahují určité množství antioxidantů, jejich koncentrace je nižší než u likérů získaných macerací bylin, ale ani v případě těchto produktů nemusí být antioxidační účinky zanedbatelné.

Zajímavé je porovnání výsledků napojů typu u fernet (Obr. 1). Hodnota antioxidační kapacity nápoje závisí na obsahu fenolů, zdrojem fenolů jsou maceráty bylin. Z uvedeného je zřejmé, že celková antioxidační kapacita odpovídá podílu použitých macerátů, čím je více macerátu v receptuře a méně trestí, tím jsou vyšší antioxidační vlastnosti.



Obrázek 1 Porovnání celkové antioxidační kapacity (TAS) fernetů



Obrázek 2 Korelace výsledků stanovení celkové antioxidační aktivity (TAS) setem Randox a metodou CITP – CZE. *(Korelační koeficient série vzorků= 0.71, při vyloučení „odlehlé“ hodnoty pro červené víno r= 0,93)*

Z porovnání výsledků získaných oběma technikami na obr. 1 je zřejmé, že spolu těsně korelují hodnoty celkové antioxidační kapacity a množství migrujících v UV oblasti spektra absorbujících látek. Je také zřejmé, že hlavními nositeli antioxidačního účinku v analyzovaných výrobcích jsou fenoly, resp. apolyfenoly. Korelovány byly výsledky analýz u série vzorků: Frankovka, Fernet, Fernet Citrus, Magister, Brandy, Whisky a Pepermint. Výsledek stanovení fenolů CITP-CZE je vyjádřen v mmol resveratrolu na litr.

Závěr:
Celková antioxidační kapacita produktu zjištěná setem Randox koreluje se sumárním obsahem fenolů.
Celková antioxidační kapacita lihovin (zejména hořkých likérů) je nezanedbatelná, po přepočtu na „denní dávku“ je srovnatelná s bílým vínem, pivem nebo pomerančovou šťávou.
Stanovení celkové antioxidační aktivity v hořkých lihovinách (fernetech) různých výrobců umožňuje porovnat podíl macerátu bylin ve výrobku.

Literatura

Belitz, H. D., Grosch, W.: Food Chemistry, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1999
Ferguson, L.R.: Role of plant polyphenols in genomic stability. Mutation res., 475, 2001, 89 – 111.
Ghiselli, A., Natella, F., Guidi, A., Montanari, L., Fantozzi, P., Scaccini, C.:Beer increases plasma antioxidant capacity in humans. J. Nutr. Biochem., 11 (1), 2000, 76 – 80.
Holeček, V., Racek, J., Trefil, L.: Volné radikály a antioxidanty ve výživě a jejich vztah k onemocněním. Sborník Semináře Antoixidační kapacita a její využití při výrobě piva a vína, 11. 4. 2000, Plzeň.
Mopure, A., Cruz, J.S., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, J.N., Parajo, J.C.: Natural antioxidants from residual sources. Food Chem. 72, 2000, 145 – 171.
Randox: Fre Radicals – firemní dokumentace
Velíšek, J.: Chemie potravin 1 – 3, Ossis Tábor, 1999.
Wollgast, J., Anklam, E.:Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? Food Res. Int., 33 (6), (2000), 449 – 459.

VÝZNAMNÉ PÔSOBENIE FLAVONOIDOV KELU NA ĽUDSKÝ ORGANIZMUS

Kováčová M., Takácsová M., Maceková A.
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

Kel sa využíva vo výžive ľudí od nepamäti. Pochádza pravdepodobne z Apeninského polostrova, kde sa pestuje viac ako 2000 rokov. Názov pochádza z latinského slova *caulis.*

Epidemiologické štúdie potvrdzujú príspevok flavonoidov k prevencii pred civilizačnými chorobami v dôsledku silných antioxidačných vlastností. Zistilo sa, že vysoká spotreba kelu znižuje riziko rakoviny žalúdka, tenkého a hrubého čreva (Poluninová, 1997). Kel je po cibuli najväčším zdrojom flavonolov, pričom sa jedná o flavonoly s aglykónom kvercetínu a kampferolu. V literatúre je pomerne málo informácií o obsahu týchto zlúčenín, pretože kel má úzke kulinárne využitie a preto sa ani nepestuje v takom rozsahu ako napr. príbuzná kapusta, brokolica alebo karfiol. Podľa Hertoga (Hertog, 1992) kel obsahuje 110 mg/kg kvercetínu a 211 mg/kg kampferolu, Linsensein (Linsensein, 1997) uvádza nižšie hodnoty (60 mg/kg kvercetínu a 105,5 mg/kg kampferolu).

Biologická účinnosť flavonoidov v ľudskom organizme a ich úloha v prevencii pred chorobami.

Približne polovica flavonoidov prijatých potravou sa v našom organizme resorbuje vo fyziologicky aktívnej forme a rozvíja svoje antioxidačné účinky. V ich prispievaní k bunkovému aj mimobunkovému antioxidačnému potenciálu sú však ešte veľké nejasnosti. Je však dokázané, že pôsobenie flavonoidov je zo zdravotného hľadiska veľmi pozitívne. Rhodes (Rhodes, 1996) zaradil flavonoidy k semiesenciálnym zložkám potravy.

Antikarcinogénny účinok flavonoidov závisí od ich chemickej štruktúry. Prejavuje sa v iniciačnej aj v propagačnej fáze. Dosahuje sa rôznymi mechanizmami. Jedným z nich je vzájomné pôsobenie s DNA. Flavonoidy sú štruktúrne podobné nukleotidom, preto sú schopné naviazať sa na DNA a predísť tak jej prípadným oxidačným poškodeniam. Uda et al. (Uda et al., 1997) zistili, že kvercetín, ale najmä kampferol podporujú detoxikáciu karcinogénov tým, že porušia rovnováhu medzi fázou I enzýmov, ktoré aktivujú karcinogény (napr. cytochróm P450 1A) a fázou II detoxikačných enzýmov (napr. glutation S-transferáza, chinón reduktáza, UDP-glukuronyl transferáza) v prospech detoxikácie. Nevyhnutným štruktúrnym predpokladom na indukovanie fázy II enzýmov je 2,3-dvojitá väzba v kruhu C, hydroxylová skupina v polohe 3 aktivitu zvyšuje. Týmto požiadavkám vyhovujú aj flavonoidy na báze kvercetínu a kampferolu vyskytujúce sa v keli .

Antimikrobiálna aktivita flavonoidov je silná, kvercetín pôsobí proti mnohým typom vírusov. Avšak po úspešnom nasadení antibiotík záujem o tieto prírodné účinné substancie poklesol. Rôzne flavonoidy môžu tiež ovplyvňovať zrážanlivosť krvi. Tento účinok je výsledkom spomaľovanie zmien kyseliny arachidónovej, ktorej konečnými produktami sú prostaglandíny a tromboxány (obidva stimulujú zrážanie krvi). Flavonoidy ovplyvňujú významne aj imunologickú rovnováhu. Ich účinok je špecifický, závisí od ich chemickej štruktúry. V literatúre sú aj zmienky o estrogénnych, hypoglykemických a spasmolytických účinkoch flavonoidov (Stoeffelbauer, 1998; Garcia et al., 1997; Uda et al., 1997).

Cieľom našej práce bola izolácia flavonoidov z listov kelu hlávkového, výber vhodnej metódy na sledovanie ich antioxidačnej aktivity a porovnanie s komerčne používanými syntetickými a prírodnými antioxidantami (BHA, α-tokoferol). Z nameraných hodnôt boli vypočítané tiež hodnoty IC_{75}, ktoré zodpovedajú koncentrácii antioxidantov, pri ktorých sa dosiahne 75 % inhibícia oxidácie nenasýtených mastných kyselín.

Materiál a metódy

Izolácia flavonoidov

Vzhľadom na podobný charakter flavonoidov vyskytujúcich sa v brokolici a v keli, použili sme s miernymi obmenami metódu, podľa ktorej izoloval flavonoidy brokolice Price et al. (Price et al., 1998). 20 g vysušeného materiálu sme 3 krát opakovane extrahovali 500 ml 70 % roztoku metanolu. Zo spojených extraktov sme oddestilovali metanol na vákuovej odparke pri teplote 50°C. Vodný roztok sme odstredili 10 min. pri 3900 min^{-1}, prefiltrovali cez fritu S4 a flavonoidy sme extrahovali v oddeľovacom lieviku etylacetátom v pomere 1 : 1. Vrchnú etylacetátovú vrstvu sme prefiltrovali, vysušili bezv. síranom sodným a zahustili dosucha na vákuovej odparke. Odparok sme rozpustili v horúcom metanole a flavonoidy sme nechali vykryštalizovať pri laboratórnej teplote.

Identifikácia flavonoidov kelu

Žlté ihličkovité kryštáliky flavonoidov sme identifikovali zmeraním UV spektra ich metanolických roztokov (Specord UV-VIS, Carl Zeiss Jena, SRN). Namerané absorpčné maximá sme porovnali s lirerárnymi údajmi (Price et al., 1998; Harborne et al., 1975).

Testovanie antioxidačnej aktivity

Antioxidačnú aktivitu sme sledovali v emulznom oxidačnom systéme rybieho oleja stanovením množstva malóndialdehydu v kombinácii metód Tsudu et al. (Tsuda et al., 1994) a Tamuru a Yamagamiho (Tamura, Yamagami, 1994). K 0,2 ml rybieho oleja (Mediflora Debrecen, MR), ktorý sme rozpustili v 10 ml absolútneho etanolu, sme pridali 10 ml tlmivého fosfátového pufra (pH 7,0) a doplnili dest. vodou na objem 25 ml. Emulziu sme po dôkladnom premiešaní preniesli do kónickej banky s objemom 100 ml, uzatvorili a nechali inkubovať v termostate pri teplote 37°C. Proces oxidácie sme sledovali v 24 h intervaloch v priebehu niekoľkodňového skladovania, dĺžku ktorého sme určili optimalizáciou. 0,2 ml emulzie „s“ resp. „bez“ prítomnosti antioxidantov sme zmiešali s 1ml 0,67 % roztoku kyseliny tiobarbitúrovej a 3 ml 0,05 M roztoku HCl . Po 30 min. inkubácie vo vodnom kúpeli (95°C) sme po ochladení ľadom farebnú substanciu extrahovali do 4 ml butanolu. Po vysušení bezv. síranom sodným sme zmerali absorbanciu pri λ = 535 nm.

Výpočet percenta inhibície I (%)

Sledovanú antioxidačnú aktivitu sme vyjadrili podľa vzťahu

$$I\ (\%) = (1 - A_A/A_K) \cdot 100, \text{ kde}$$

A_A – absorbancia pri λ = 535 nm s prídavkom antioxidantov

A_K - absorbancia pri λ = 535 nm kontrolnej vzorky

Výsledky

Určenie optimálneho antioxidantu podľa hodnoty IC_{75}

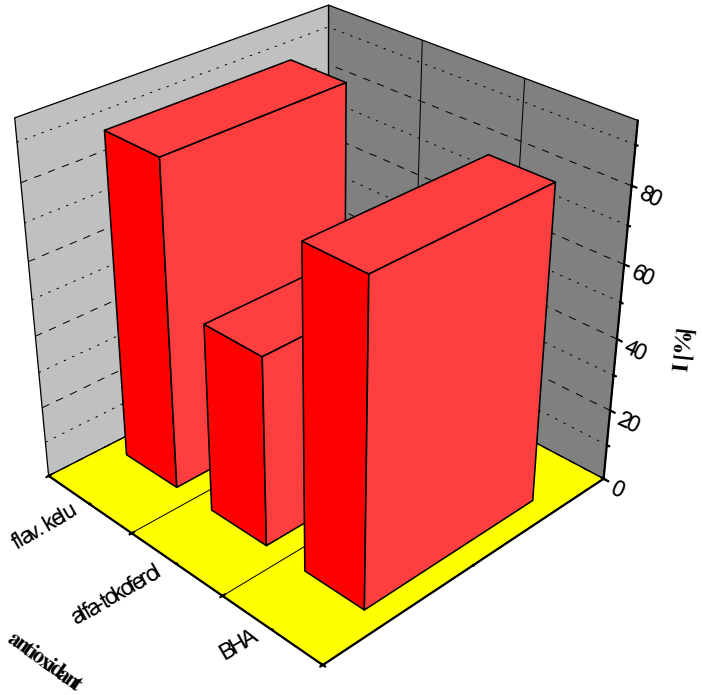
Tab.1 Hodnoty IC_{75} pre jednotlivé antioxidanty

ANTIOXIDANT	IC_{75} ($mg.l^{-1}$)
Flavonoidy kelu	51,55
BHA	45,41
α-tokoferol	-

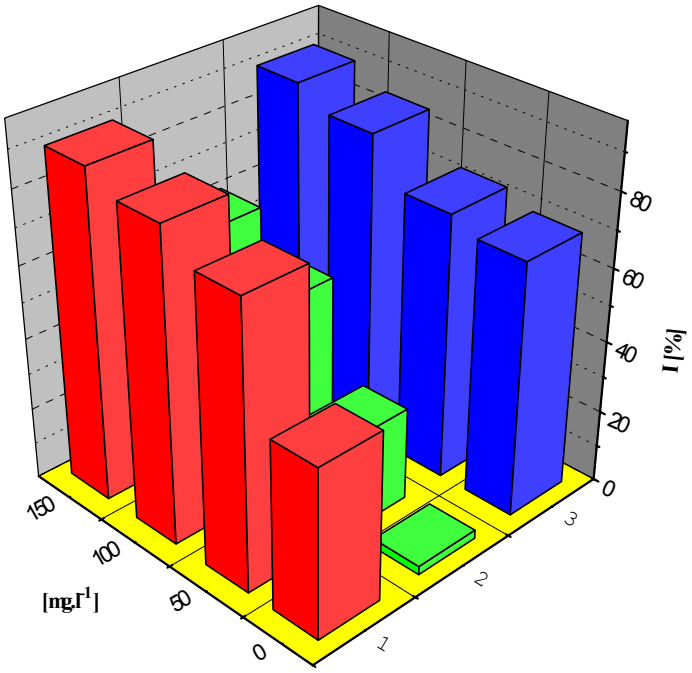
Porovnanie antioxidačných účinkov flavonoidov kelu s α-tokoferolom a BHA stanovením inhibície oxidácie I (%)

Tab.2 Inhibícia oxidácie nenasýtených mastných kyselín pri aplikácii antioxidantov (100 mg.l^{-1})

ANTIOXIDANT	I (%)
Flavonoidy kelu	85,68
BHA	85,22
α-tokoferol	51,65



Obr. 1 Porovnanie antioxidačných účinkov antioxidantov na koncentračnej hladine 100 mg.l^{-1}



flavomnoidy kelu
α-tokoferol
BHA

Obr.2 Vplyv koncentrácie flavonoidov kelu, α-tokoferolu a BHA na ich antioxidačný účinok

ZÁVER

flavonoidy brokolice (*na báze kvercetínu a kampferolu*) sú veľmi dobré antioxidanty prírodného charakteru
ich antioxidačná aktivita výrazne narastá so zvyšovaním ich koncentrácie
po 3 dňoch inkubácie nenasýtených mastných kyselín v prítomnosti antioxidantov v množstve 100 $mg.l^{-1}$ sa po aplikácii flavonoidov kelu dosiahla porovnateľná hodnota inhibície oxidácie (85,68 %) ako u syntetického antioxidantu BHA (85,22 %) a vyššia ako u prírodného antioxidantu α-tokoferolu (51,65 %)
hodnota IC_{75} je pre flavonoidy kelu 1,1 krát vyššia v porovnaní s BHA; α-tokoferol za daných podmienok 75 % inhibíciu nedosiahol
z uvedeného vyplýva, *že flavonoidy kelu môžu hrať významnú úlohu v ochrane lipidov bunkových membrán pred oxidáciou kyslíkovými radikálmi*
aplikáciou flavonoidov do potravín a konzumáciou potravín s obsahom flavonoidov je možné účinne chrániť ľudský organizmus pred škodlivým vplyvom voľných radikálov a tým pred celým radom civilizačných ochorení (infarkt myokardu, ateroskleróza, šedý zákal, nádorové ochorenia, proces stárnutia organizmu)

Literatúra

Poluninová, M.: Healing foods. London, Dorling kindersley Limited 1997.157 s.
Hertog, M.G.L.-Hollman, P.C.H.-Katan, M.B.: Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 fruits Commonly Consumed in The Neederland. J.Agric.Food Chem., 40,1992, s.2379-2383.
Linseinsen, J.-Radtke, J.-Wolfram,G.: Flavonoid intake of adult in bavarian subgroup of the national food consumption survey. Z. Ernährungswiss., 36,1997,s.403-412.
Rhodes, M.J.C.: Physiologically –active compounds in plant foods:an overview. Proceed.Nutr.Soc., 55, 1996, s.371-384.
Uda, Y.et al.: Induction of the anticarcinogenic marker enzyme quinone reductase, in murine hepatoma cells in vitro by flavonoids. Cancer Letters, 120, 1997, s.213-216.
Stoeffelbauer, M.: Flavonoids. Structure, action in the human body and comparison of nutritional recommendations. Ernährung, 22, 1998,s.114-117.
Garcia , O.B. et al.: Uses and properties of citrus flavonoids. J.Agric.Food Chem., 45,1997,s.4505-4515.
Price, K.R. et al.: Composition and content of flavonol glycosides in broccoli florets (Brassica olearacea) and their fate during cooking. J.Sci.Food Agric., 77,1998,s.468-472.
Harborne, J.B.et al.: The flavonoids, part 1.1.vyd.New York, Academic Press Int.1997. 631 s.
Tamura, H.-Yamagami, A.: Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from Muscat Bailey A grape. J.Agric.Food Chem., 42,1994,s.1612-1615.
Tsuda, T. et al.: Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin-3-O-β-D-glucoside and cyanidin. J.Agric.Food Chem., 42,1994,s.2407-2410.

POHANKOVÁ NAŤ V POTRAVINÁCH

Paulíčková I.[1], Vyžralová K.[2], Holasová M.[1], Fiedlerová V.[1], Vavreinová S.[1]
1-Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10
2-Bří Zátkové a.s. , 373 82 Boršov nad Vltavou 131

Abstrakt

První aplikace pohankového listí do extrudovaného výrobku z důvodu velice příznivého, přirozeně vysokého obsahu rutinu. Vývoj výrobku od laboratorních pokusů po průmyslovou výrobu. Sledování mikrobiální nezávadnosti, senzorické jakosti a obsahu vybraných nutričních faktorů během skladování. Zkoumání určitých nutričně cenných faktorů v pohankové nati (rutin, aktioxidační vlastnosti, vláknina). Stanovení antioxidační aktivity ve vybraných částech pohanky seté a sledování vlivu přídavku pohankového listí na změnu antioxidační aktivity.

Klíčová slova: pohanková nať, rutin, antioxidační vlastnosti, Zátkův kukuřičný plátek s pohankou a česnekem, Zlatá Salima Brno 2002, extruze

---

Úvod

Pohanka setá (Fagopyrum esculentum) je nutričně vysoce hodnotnou plodinou s obecně nízkou náročností na pěstitelské podmínky, s krátkou vegetační dobou , odolností proti biotickým stresům, s přirozeným složením bílkovinného komplexu, minerálních látek, vitamínů, antioxidantů a absencí lepku. Zvláště pak je ceněna pro svůj přirozeně vysoký obsah rutinu. Rutin (kvercetin – 3 – β – rutinosid), patřící do skupiny bioflavonoidů, představuje terapeuticky významnou látku, která má vliv zejména na zvýšení pružnosti a rozšiřování cév, šíření mikrobiálních toxinů tkáněmi, snižování krevního tlaku, při prevenci mozkové aterosklerózy a zadržování vápníku v těle.

Materiál a metodika

***Materiál*:** Pohanka setá (Fagopyrum esculentum) – směs odrůd

pohanková nať, listy, stéblo
pohanková semena celá, vyloupaná a slupky
Pohanka byla posekána a ihned usušena v teplovzdušné sušárně při 105°C a rozemleta (síto 0,5 mm)

Sádlo škvařené - modelový lipidový substrát (PČ <0,8 mmol O_2/kg)

Metoda: **Stanovení obsahu rutinu metodou HPLC**

Kolona	**Watrex 250x4, SGC C18, 7µm**
Mobilní fáze	0,25% kys. octová : methanol : ACN (35:5:10) V/V/V
Detekce	350 nm
Průtok	1,5 ml/min
Nástřik	20 µl
Teplota	laboratorní

Extrakce rostlinného materiálu byla prováděna methanolem za mírného varu pod zpětným chladičem po dobu 4 hodin.

Stanovení antioxidační aktivity

Schaalův test při 70 $^{+}$/- 0,5°C s gravimetrickou indikací

Uspořádání pokusů 10g škvařeného sádla s přídavkem 1 – 15 hm% pohankového rostlinného materiálu v 1cm vrstvě
Protekční faktor poměr indukční periody substrátu se vzorkem a bez vzorku

Laboratorní extruze

Zařízení	laboratorní extruder Brabender 330
Teplota	160°C
Počet šneků	1
Průměr vytlačovací trysky	3 mm
Geometrie šneku	1:3
Torzní poměr	20-30 N.m

Výsledky

Obsah rutinu je proměnlivý podle části rostliny. Bylo zjištěno, že největší obsah rutinu se vyskytuje v listové části rostliny těsně před kvetením, ovšem z technologického a ekonomického hlediska je snazší používat jako zdroj rutinu pohankovou nať. Obsah rutinu v jednotlivých částech pohanky je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1: Sledování obsahu rutinu v jednotlivých částech pohanky

část rostliny	**obsah rutinu**	**obsah rutinu**
	mg/100g vzorku	mg/100 sušiny
nažky loupané	11,2	12,6
nažky s pluchou	16,0	17,8
nažky loupané naklíčené	35,4	36,6
kořen	39,3	43,6
klíčky	19,6	169,2
stéblo	532,0	563,4
květ	1181,0	1272,6
osení	168,5	1792,0
nať	2300,0	2337,4
list	3769,0	4001,1

Doposud se využívalo pohankové natě k izolaci rutinu pro farmakologické účely a k přípravě čajových směsí. Akciová společnost Bratři Zátkové ve spolupráci s Výzkumným ústavem potravinářským Praha uvedla v roce 2001 na trh nový extrudovaný výrobek – Zátkův kukuřičný plátek s pohankou a česnekem, oceněný Zlatou Salimou Brno 2002 .V tomto výrobku byla poprvé použita sušená pohanková nať jako nedílná součást potravinářského výrobku. Pohanková nať zároveň vnáší do zmiňovaného výrobku užitečnou rostlinnou vlákninu (obsah vlákniny v pohankové nati činí 49,89 hm% TDF).
Doporučená denní dávka rutinu je 20 – 60 mg. Ve výrobku Zátkův kukuřičný plátek s pohankou a česnekem bylo stanoveno průměrně 51 mg rutinu v jednom spotřebitelském balení (tzn. v 65g). Konzument může tudíž získat z jediného originálního balení potřebnou denní dávku rutinu.
Tabulka 2a ,2b uvádí obsah některých dalších látek obsažených v Zátkově kukuřičném plátku s pohankou a česnekem.

Tabulka 2a: Obsah stanovovaných látek v Zátkově kukuřičném plátku s pohankou a česnekem (ZKP)

	sušina	**bílkoviny**	**sacharidy**	**tuky**	**vláknina**	**rutin**
	hm.%	g/100g výr.	g/100g výr.	g/100g výr.	% TDF	mg/100g výr.
ZKP	92,12	9	79	3	4,86	75

Tabulka 2b: Obsah stanovovaných látek v Zátkově kukuřičném plátku s pohankou a česnekem (ZKP)

	Cd	**Pb**	**Hg**	**E.colli**	**plísně**	**Salmonella**
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	KTJ/g výr.	KTJ/g výr.	KTJ/25g výr.
ZKP	0,007	0,08	<0,0003	<50	<50	(-)

Během extruze došlo k poklesu rutinu téměř o 50%.
V tabulce 3 je uveden přehled změn obsahu rutinu během zpracování na laboratorním jednošnekovém extrudru Brabender 330.

Tabulka 3: Sledování změn obsahu rutinu během extruze

materiál	**sušina**	**obsah rutinu před extruzí**	**obsah rutinu před extruzí**	**obsah rutinu po extruzi**	**obsah rutinu po extruzi**
	% hm.	mg/100gvýrobku	mg/100g sušiny	mg/100gvýrobku	mg/100 g sušiny
pohanková nať sušená	98,40	2300,0	2337,4	N/A	N/A
pohankové listí sušené	95,12	2305,6	2423,9	N/A	N/A
stéblo sušené	94,43	505,0	534,8	N/A	N/A
přídavek suš. pohankové natě do extrud. výrobku	98,40	240,0	243,9	124,2	126,2
přídavek suš. listí do extrud. výrobku	95,12	240,0	252,3	113,8	119,6
přídavek suš. stébla do extrud. výrobku	94,43	80	84,7	41,2	43,6

Ke stanovení doby trvanlivosti bylo nezbytné provést skladovací pokus.
Tabulka 4 zachycuje změny obsahu rutinu, senzorické změny chuti a celkové počty sledovaných mikroorganismů.

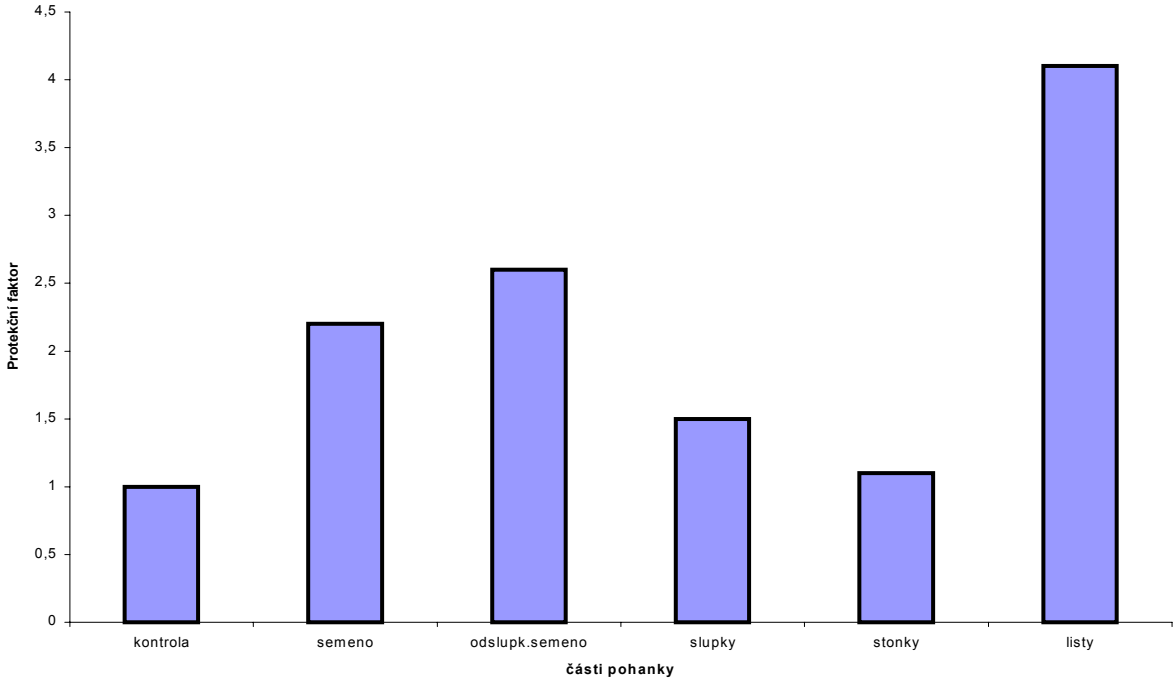
Tabulka 4: Sledování změn obsahu rutinu, chuti a počtu mikroorganismů v extrudovaném výrobku během skladování

vzorek	**doba skladování**	**senzorické hodnocení chuti** (1-70)	**obsah rutinu**	**Salmonella**	**E.colli**	**plísně**
	počet měs.		mg/100g výr.	MO/g vz.	MO/g vz.	MO/g vz.
PK cibulové	0	25,5	113,4	(-)	(-)	(-)
PK česnek.	0	29,5	103,2	(-)	(-)	(-)
PK cibulové	1	21,0	109,8	(-)	(-)	(-)
PK česnek.	1	22,3	103,0	(-)	(-)	(-)
PK cibulové	3	25,3	N/A	(-)	(-)	(-)
PK česnek.	3	24,8	N/A	(-)	(-)	(-)
PK cibulové	4	26,9	106,2	(-)	(-)	(-)
PK česnek.	4	27,3	103,6	(-)	(-)	(-)
PK cibulové	6	31,2	105,4	(-)	(-)	(-)
PK česnek.	6	30,5	99,6	(-)	(-)	(-)

(pro sledování změn chuti byla zvolena grafická metoda s rozmezím 1 – 70 (1-výborná chuť…. 70 – odporná chuť).

Vybrané jednotlivé složky pohanky byly zkoumány i z pohledu jejich antioxidačního působení. Obrázek 1 představuje antioxidační aktivitu jednotlivých částí pohanky seté.

Obrázek 1: Antioxidační aktivita jednotlivých částí pohanky seté



Závěr

Obsah rutinu stoupá v jednotlivých částech pohanky v řadě: nažky loupané < nažky s pluchou < nažky loupané naklíčené < kořen < klíčky < stéblo < květ < zelené výhonky < < nať < list.

přihlédnutím k technologickým možnostem a nákladovosti během sklizně byla i přes nižší obsah rutinu zvolena jako výchozí surovina pohanková nať a ne pohankové listí.

V pohankové nati je přibližně 100 krát vyšší obsah rutinu než v běžně využívaných nažkách.

Pohanková nať byla aplikována do extrudovaného výrobku (přínos vlákniny, rutinu a antioxidantů) a tento výrobek, pod obchodním názvem **Zátkův kukuřičný plátek s pohankou a česnekem**, byl oceněn Zlatou Salimou Brno 2002.

Originální receptura vznikla v úzké spolupráci VÜP Praha a firmou Bratři Zátkové a.s., Boršov nad Vltavou, ČR.

Konzumací jediného originálního balení (65g) se získá potřebná denní dávka rutinu.

Extruzí dochází k poklesu rutinu o 50%.

Antioxidační účinek vybraných částí pohanky seté stoupá v řadě: stébla (mírné antioxidační účinky) < slupky (mírné antioxidační účinky) < semena(protekční faktor 2,2 – 2,6) < listí (protekční faktor 4,1)

Antioxidační aktivita roste s rostoucím obsahem listí ve vzorku, závislost se příliš neliší od linearity, přídavkem 15% pohankového listí ve vzorku vzroste protekční faktor na 4,1.

Pohankové listí je vhodnou potravinovou složkou s přirozeným antioxidačním účinkem.

Literatura:

Michalová A., Hutař M.: Pohanka setá (Fagopyrum esculentum). Výživa a potraviny 1998,(5).

Michalová A.: Variability of selected characteristics in sets of buckwheat, millet and amaranth; selection of perspective genorypes and comparison of their nutritive value.Res.Rep, Ljublana 1998, 71, 115-125.

Chevallier A.: The Encyclopedia of Medicinal Plants.Dorling Kindersley. London 1996

Oomah B. D., Mazza G.: Flavonoids and Antioxidative Activities in Buckwheat. J. Agric. Food Chem. 1996, 44, 1746-1750.

Kreft I., Skrabanja V., Ikeda S., Francisci R., Bonafaccia G.: New nutritional aspects of buckwheat based products. Getreide mehl und Brot 1998, 52 (1), 27-30.

Paulíčková I.: Rutin – kouzelné zaklínadlo z pohanky..Moderní kuchyně 2001, VI, (6), 8-10.

STUDIUM VYBRANÝCH FAKTORŮ OVLIVŇUJÍCÍCH ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI CHMELOVÝCH POLYFENOLŮ

Karabín M., Čepička J., Hofta P.
Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5 Praha 6, 166 28

Úvod

Pivo je oblíbený slabě alkoholický nápoj, který je pro svůj osvěžující charakter, příjemnou hořkou chuť a dietetické účinky velmi rozšířen u nás i v zahraničí. Jeho obliba se projevuje v celosvětovém růstu výroby. Spolu s tím ovšem stabilně rostou i požadavky, se kterými se musí většina výrobců vyrovnávat.

Jedním z největších problémů dnešního pivovarského průmyslu jsou oxidační změny piva během jeho výroby a stárnutí. Proto se dnes řada pivovarských odborníků zaměřila ve svých pracích na antioxidanty, zejména na antioxidanty přírodní, mající svůj původ v surovinách, tedy sladu, chmelu a chmelových výrobcích, nikoli tedy na antioxidanty umělé, do piva přidávané v průběhu jeho výroby. Nejdůležitější skupinou látek s antioxidačními účinky jsou polyfenoly a jim příbuzné látky, v menší míře i α- a β-hořké kyseliny, které dalekosáhle ovlivňují jeho senzorické vlastnosti i celkovou trvanlivost.

Autoři ověřili metodiku pro stanovení celkové antioxidační kapacity (TAS – Total Antioxidation Status) v různých odrůdách chmele a chmelových výrobků. Metodu aplikovali při simulaci provozních podmínek, které mohou ovlivnit antioxidační účinky polyfenolických látek (přístup kyslíku, pH, doba a podmínky skladování chmele). Zjištěné změny hladiny obsahu jednotlivých polyfenolů a hodnot TAS statisticky vyhodnotili a určili vliv technologických podmínek na obsah a profil polyfenolických látek a jejich antioxidačních účinků.

Pracovní postup

Bylo analyzováno sedm českých chmelů a chmelových výrobků sklizní 2000 a 2001 – Bor, Sládek, Premiant, Žatecký poloraný červeňák hlávkový (sklizeň 2000 a 2001), Žatecký poloraný červeňák granulovaný, dále dva americké chmely Galena a Nugget a anglický chmel Fuggle. Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ) je jemně aromatická odrůda, Sládek a Fuggle patří mezi aromatické odrůdy, Premiant a Bor se řadí mezi „dual purpose“ odrůdy tj. odrůdy dvojího účelu. Nugget, Galena a Agnus jsou vysokoobsažné odrůdy. Odrůda Agnus je nově zaregistrovaná. Všechny vzorky chmele byly poskytnuty Chmelařských institutem v Žatci.

Z každé odrůdy byl připraven výluh z destilované vody. Z 6 vzorků byly dále připraveny výluhy z destilované se změněnými fyzikálními vlastnostmi - snížené pH a provzdušněním zvýšený obsah kyslíku. Dále byly výluhy připraveny ze chmelů které byly měsíc skladovány na vzduchu při pokojové teplotě. U všech vzorků byl stanoven obsah celkových polyfenolů a obsah 18 vybraných polyfenolických látek a Total antioxidation status (TAS) metodikou vyvinutou firmou RANDOX.

Princip stanovení Total antioxidation status (TAS)

Bylo použito metodiky navržené firmou RANDOX, jejíž princip spočívá v reakci metmyoglobinu s peroxidem vodíku za vzniku radikálu ferrylmyoglobinu. Ten následně reaguje s 2,2´-azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát) (ABTS) v substrátu a vytváří radikální kation $ABTS^{\bullet}$ modro-zelené barvy. Antioxidanty v systému zabraňují tvorbě $ABTS^{\bullet}$ v míře, odpovídající jejich koncentraci. Reakce probíhá při 37 ^{o}C a měření je provedeno při vlnové délce 600 nm na automatickém analyzátoru HITACHI 717.

$$\mathbf{HX\text{-}Fe^{III} + H_2O_2 \rightarrow X - (Fe^{IV} = O) + H_2O}$$
$$\mathbf{ABTS^{\bullet} + X - (Fe^{IV} = O) \rightarrow ABTS^{\bullet} + HX\text{-}Fe^{III}}$$

HX-FeIII . . . . . metmyoglobin
X – (FeIV =O) . . . . .ferrylmyoglobin
ABTS• . . . . . 2,2´-azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát)

V 1 cm kyvetách byly přesně 1 minutu po smíchání a promíchání měřeny absorbance (A1) kontrolního vzorku (složen z 20 µl redukující vody a 1 ml chromogenu), standardu (složen z 20 µl 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyseliny a 1 ml chromogenu) a vzorku (složen z 20 µl vzorku 1 ml chromogenu). Poté bylo do všech kyvet přidáno 200 µl peroxidu vodíku. Po promíchání byla za 3 minuty opět měřena absorbance (A2). Celková antioxidační kapacita (TAS) byla vyjádřena v mmol.l-1 a vypočtena podle vzorce:

$$\mathbf{TAS=[koncentrace\ standardy/(dA_{kontrolní\ vzorek} - dA_{standarda})]\ x\ (dA_{kontrolní\ vzorek} - dA_{vzorek})}$$

kde: $dA_{kontrolní\ vzorek} = dA_{1\ kontrolní\ vzorek} - dA_{2\ kontrolní\ vzorek}$
$dA_{standarda} = dA_{1\ standarda} - dA_{2\ standarda}$
$dA_{vzorek} = dA_{1\ vzorek} - dA_{2\ vzorek}$

Výsledky

a) Celková antioxidační kapacita jednotlivých vzorků chmelů

Výsledky stanovení TAS u jednotlivých výluhů jsou uvedeny v tabulce I. Z výsledků je patrný jednoznačný vliv obsahu kyslíku ve vodě použité při přípravě výluhů na hodnoty ATS. Dále je zjevná odlišnost Žateckého poloraného červeňáku (ŽPČ) od ostatních odrůd, a to jak u hlávkového chmele, tak u chmele zpracovaného do pelet. Hodnoty TAS u vzorků výluhů z ŽPČ byly dvakrát větší než u vzorků výluhů připravených z amerických odrůd Columbus a Nugget. Vliv nižšího pH na zvýšení TAS spočívá pravděpodobně v intenzivnější extrakci polyfenolických látek z chmele, což je patrné i při srovnání obsahů celkových polyfenolů, uvedených v tabulce II.

b) Antioxidační kapacita vybraných polyfenolických látek

Dále byla stanovena celková antioxidační aktivita 23 polyfenolových látek o koncentraci 125 mg/l v methanolu, včetně syntetického antioxidantu BHT (3,5-ditercbutyl-4-hydroxy-toluen). Největší celková antioxidační kapacita byla stanovena u katecholu (8,80 mmol/l), nejnižší pak u kyseliny salicylové (2,37 mmol/l). Syntetický antioxidant BHT měl celkovou antioxidační kapacitu 3,90 mmol/l. Výsledky jsou shrnuty v Tab. III.

c) Výsledky shlukové analýzy

Výsledky shlukové analýzy (obr. 1) mají podobu stromového diagramu – dendrogramu. Statistická analýza nám potvrdila předpoklad odlišnosti jemných aromatických odrůd od vysokoobsažných a zároveň i podobnost Žateckého poloraného červeňáku a novošlechtěných odrůd, s vyjímkou nově zaregistrované odrůdy Agnus, která má i po genetické stránce s Žateckým chmelem jen velmi málo společného.

Tabulka I - **Celková antioxidační kapacita TAS analyzovaných chmelů**

Odrůda chmele	**Forma**	**TAS (mmol/l)**			
		a	**b**	**c**	**d**
Agnus	hlávkový chmel	3,54	3,44	2,80	3,21
Bor	hlávkový chmel	3,52	3,76	2,86	3,15
Fuggle	hlávkový chmel	4,87			
Galena	hlávkový chmel	3,71	3,62	2,91	3,44
Nugget	hlávkový chmel	3,17			
Premiant	hlávkový chmel	3,63	3,91	3,14	3,44
Sládek	hlávkový chmel	4,00	4,16	3,38	3,78
ŽPČ	hlávkový chmel	5,12	5,37	4,68	4,88
ŽPČ	granulovaný chmel	5,37			
ŽPČ 2000	hlávkový chmel	5,09			

Tabulka II - **Obsah celkových polyfenolů v analyzovaných chmelech**

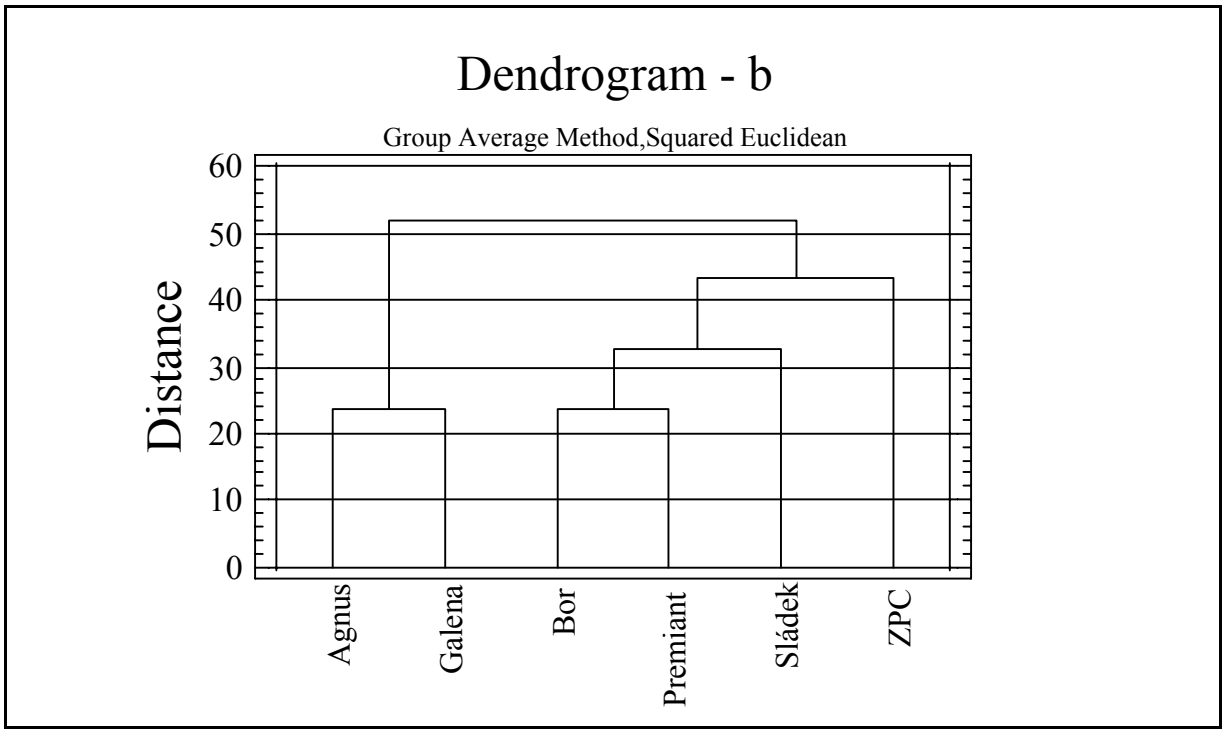
Odrůda chmele	**Forma**	**Obsah celkových polyfenolů (%hm. v pův.)**			
		a	**b**	**c**	**d**
Agnus	hlávkový chmel	2,77	2,60	2,46	2,72
Bor	hlávkový chmel	2,94	3,06	2,63	2,91
Fuggle 2000	hlávkový chmel	3,98			
Galena	hlávkový chmel	2,83	2,79	2,49	2,62
Nugget 2000	hlávkový chmel	2,72			
Premiant	hlávkový chmel	2,82	2,96	2,68	2,81
Sládek	hlávkový chmel	2,77	2,85	2,51	2,74
ŽPČ	hlávkový chmel	4,34	4,48	4,28	4,29
ŽPČ	granulovaný chmel	4,38			
ŽPČ 2000	hlávkový chmel	4,15			

Pozn.
a – výluh připravený z destilované vody o pH 7,0
b – výluh připravený z destilované vody o pH 5,0
c – výluh připravený z destilované zavzdušněné vody
d – výluh oxidovaného chmele

Tabulka III - Celková antioxidační kapacita TAS methanolových roztoků vybraných polyfenolových látek

Polyfenolová látka	**TAS (mmol/l)**	**Polyfenolová látka**	**TAS (mmol/l)**
Kyselina salicylová	2,37	(+)-Katechin	5,37
Kyselina p-hydroxybenzoová	2,39	Kyselina ferulová	5,39
Kyselina *trans*-skořicová	2,39	Kyselina ellagová	5,60
Naringenin	3,26	Morin	5,60
BHT	3,90	(-)-Epikatechin	5,76
Rutin	4,07	Kyselina p-kumarová	6,29
Kyselina o-kumarová	4,11	Kyselina protokatechová	6,74
Kyselina chlorogenová	4,46	Kyselina gallová	6,81
Kyselina vanilová	4,67	Kyselina kávová	6,94
Kyselina sinapová	5,03	Kvercetin	8,04
Kyselina syringová	5,05	Katechol	8,80
Kyselina gentisová	5,33		

Obrázek 1 - **Výsledky shlukové analýzy**



KAROTENOIDNÍ PIGMENTY – POTRAVNÍ DOPLŇKY

Očenášková J.[1], Kopecký J.[2]
1- Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií, Vysoké učení technické Brno, Purkyňova 118, 612 00 Brno, Česká Republika, ocenaskova@fch.vutbr.cz,
2- Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR, Divize autotrofních mikroorganismů, Opatovický mlýn, 379 81 Třeboň, Česká Republika, kopecky@alga.cz

1. Úvod

Potraviny jsou nedílnou součástí naší existence a proto jsou na ně vzhledem k možnostem dnešní vědy kladeny stále větší nároky ve formě kritérií, která musí splňovat. Následně je jim umožněn vstup na trh ke spotřebiteli a mohou být považovány za plnohodnotnou součást našeho jídelního lístku (Simpson 1981). Potraviny musí splňovat řadu kriterií nejen z hlediska hygieny a kvality, ale jsou také kladeny požadavky na vzhled, neboť čím je větší atraktivita, tím větší je obrat. S největšími rozdíly se můžeme setkat u masa z drůbeže pohybující se volně v přírodě a u drůbeže pocházející z velkochovů (Storebakken 1985). Samozřejmě nejde pouze o maso, kosti a kůži, ale také vejce, které se podstatně liší barvou žloutků (Miki 1991):. Za všechny tyto rozdíly je zodpovědné složení potravy těchto zvířat, především kvalitativní a kvantitativní zastoupení karotenoidních pigmentů, neboť organismus zvířat není schopen jejich syntézu realizovat (Britton 1983). Z důvodu zvýšení kvality masa a produktů zvířat chovaných ve velkochovech jsou do krmných směsí přidávány syntetické pigmenty, které tímto způsobem přecházejí do lidského organismu (Mathews-Roth 1989):. To je však v současné době hodnoceno negativně, a proto je snaha nahradit tyto syntetické pigmenty přírodními, tzn. najít dostatečně ekonomicky výhodný přírodní zdroj. Jedním z velmi nadějných zdrojů přírodních pigmentů se jeví autotrofní řasy (Lorenz 2000):, které jsou schopny za určitých podmínek produkovat karotenoidní pigmenty ve vyšších ekonomicky zajímavějších koncentracích (Borowitzka 1986, Boussiba 2000):):. Některé z nich jsou již v současné době využívány např. pro produkci astaxanthinu
Z těchto důvodů se zabýváme studiem řas a jejich schopnostmi adaptace na změnu kultivačních podmínek (Borowitzka 1990, Nour-Eddine 1998). Cílem změn je ovlivnit jejich metabolismus tak, aby bylo dosaženo zvýšení produkce karotenoidních pigmentů (Young 1990).

2. Materiál a metody

A. Řasové kmeny a kultivace
Testováno bylo celkem 35 kmenů řas, které byly poskytnuty Sbírkou autotrofních organismů Mikrobiologického ústavu AV ČR v Třeboni. Téměř všechny testované kmeny řas byly izolované z přírodních sběrů, a chyběly u nich základní růstové parametry. Z tohoto důvodu byly všechny kmeny kultivovány na stejném kultivačním mediu vyvinutém pracovníky Mikrobiologického ústavu AV ČR v Třeboni, a za stejných kultivačních podmínek v dvoustupňovém režimu. První kultivační krok probíhal v plném živném médiu, ve druhém kultivačním kroku byly řas vystaveny stresovým podmínkám. Jako stresového faktoru bylo použito kombinace vysoké světelné intenzity současně s nutričním stresem, jenž byl navozen vyčerpáním kultivačního média růstem řas.

B. Extrakce
Celá extrakce byla prováděna při tlumeném světle za laboratorní teploty. Teplota při odpařování nikdy nepřesáhla 30°C a všechny použitá rozpouštědla byla stabilizována přídavkem butylhydroxytoluenu. Živné medium bylo nejdříve odstraněno pomocí centrifugace. Biomasa byla

zmražena, lyofilizována a dezintegrována za přítomnosti malého množství stabilizovaného tetrahydrofuranu. Následovala několika násobná extrakce tetrahydrofuranem a odpaření spojených extraktů do sucha. Odparek byl rozpuštěn v acetonu.

C. Separace

K separaci a identifikaci karotenoidních pigmentů byl použit systém HPLC s detektorem diodového pole, a kolonou Ultrasphere ODS-1. Složení mobilní fáze a průběh gradientu byl realizován dle práce Gilmore A.M. and Yamamoto H.Y. (1991):

3. Výsledky

Jak z našich předběžných experimentů, tak i na základě literárních údajů je známo, že biosyntéza sekundárních karotenoidů je podporována stresovými kultivačními podmínkami. Proto byla kultivace nejdříve prováděna v plném živném médiu , kdy růst ještě nebyl limitován nedostatkem živin ani světla. Poté byla kultivace ponechána až k dosažení stacionární fáze růstu, kdy růst byl již prakticky zastaven nedostatkem živin a řasy byly vystaveny vysoké intenzitě osvětlení. Za těchto stresových podmínek došlo u všech kmenů k dramatickým změnám ve složení a obsahu fotosyntetických pigmentů.

U všech testovaných kmenů byly pozorovány krátkodobé změny ve složení fotosyntetických pigmentů, kdy obsah chlorofylů se drasticky snížil, a složení karotenoidů byly charakteristické rychlým snížením obsahu violaxantinu doprovázené pozvolným nárůstem obsahu zeaxantinu.

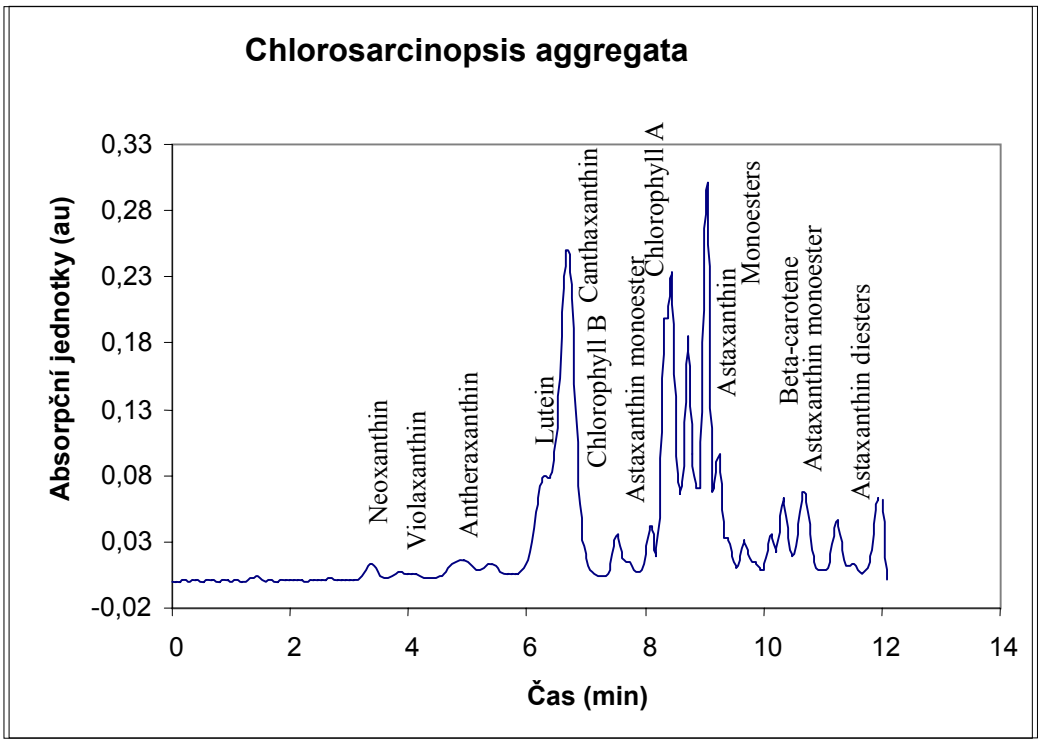
Pouze u některých kmenů docházelo k intenzivnímu nárůstu obsahu sekundárních karotenoidů především astaxanthinu jak ve volné formě, tak ve formě jeho esterů, dále pak canthaxanthinu a v malé míře také echinenonu.

Na základě těchto výsledků jsme vybrali dva nadějné kmeny - *Chlorosarcinopsis aggregata a Scotiellopsis oocystiformis* - které obsahovaly více než 500 mg sekundárních karotenoidů v 1 g biomasy po 7 dnech kultivace za stresových podmínek.

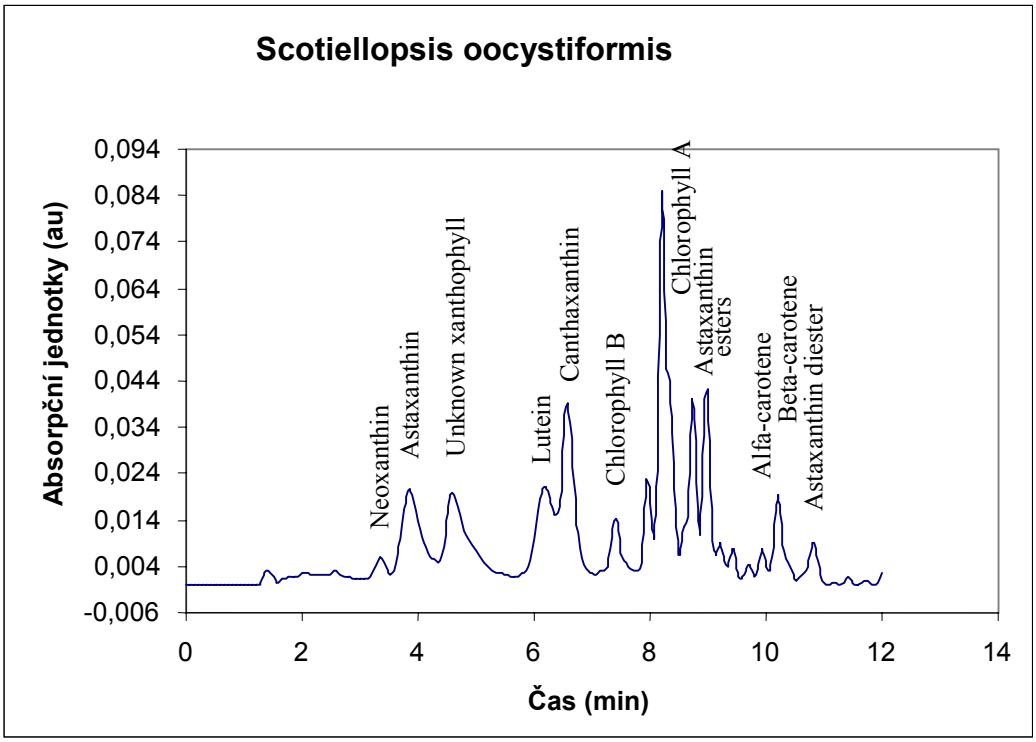
4. Závěr

Z doposud 35 testovaných kmen byly vybrány pouze dva kmeny, a jsme přesvědčeni, že pokračování v tomto výzkumu je nezbytné, neboť nalezení vhodných kandidátů pro produkci sekundárních karotenoidů mezi více než 5 000 známými kmeny autotrofních řas je věc velmi náročná. V neposlední řadě také proto, že pouze nepatrná část z těchto řasových kmenů byla dosud detailně prozkoumána, a také jejich metabolická diverzita je silně závislá na použitých kultivačních podmínkách. Výsledky předkládané práce představují dobrý základ pro nalezení biotechnologicky zajímavého kmene řas vhodného pro produkci sekundárních karotenoidů v průmyslovém měřítku.

5. Obrázky



Obrázek č.1: Chromatogram řasy *Chlorosarcinopsis aggregata* při vlnové délce 440nm ukazuje zastoupení karotenoidních pigmentů v buňce.



Obrázek č.2: Chromatogram řasy *Scotiellopsis oocystiformis* při vlnové délce 440nm ukazuje zastoupení karotenoidních pigmentů v buňce.

6.Literatura

Borowitzka M. A., Borowitzka L. J.(1986): Microalgal Biotechnology - Cambridge University Press.

Borowitzka M. A., Borowitzka L. J., Kessley D. (1990): Effects of Salinity Increase on Carotenoid Accumulation in the Green Alga Dunaliella Salina - Journal of Appl. Phycol. **2**, 111-119

Boussiba S. (2000): Carotenogenesis in the green alga Harmatococcus pluvialis – Physiologia Plantarum **108**: 111-117.

Britton G. (1983): Carotenoids. In The Biochemistry of Natural Pigments, p 23-73, Cambridge University Press, Cambridge.

Gilmore A. M., Yamamoto H. Y. (1991): Resolution of lutein and zeaxanthin using a non-endcapped, lightly carbon-loaded C18 high-performance liquid chromatographic column - Journal of Chromatography **543**, 137-145.

Lorenz R.T. and Cysewski G.R. (2000): Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin – Elsevier applied science, Vol. **18**, p. 160-167.

Mathews-Roth M. M. (1989): Nutrition and Cancer Prevention, Marcel Dekker, New York.

Miki W. (1991): Biological functions and activities of animal carotenoids – Pure appl. Chem. **63**: (1) 141-146

Nour-Eddine R., Benoit S., Yves L. (1998): Carotenoids and Stress in Higher Plants and Algae - Handbook of Crop and Plant Stress, Marcell Dekker, New York.

Simpson K. I., Katayama T., Chichester C. O. (1981): In Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors (Bauernfriend J.C., Ed.), chap. 4., Academic Press, New York.

Storebakken T.et al. (1985): Carotenoids in diets for salmonoids – Aquaculture **44**, p. 259-269

Young A. J., Briton G. (1990): Carotenoids and Stress. In Stress responses in plants-Adaptation and Acclimation Mechanisms (Alscher R. G., Cumming J. R., Eds.), p. 87-112, Wiley Liss, New York.

MIKROFLÓRA KYSELÝCH POTRAVIN, MOŽNOSTI JEJÍ INHIBICE

Fabíková I., Voldřich M., Ševčík R., Čeřovský M.
Ústav konzervace potravin a technologie masa VŠCHT v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6

V kyselých potravinách (pH nižší než 4,0) vegetují zpravidla jen mikroorganismy, které jsou ve vlhkém prostředí citlivé na teplotu. Hynou proto v poměrně krátké době (několik minut až sekund) při teplotách do 100°C. Patří sem kvasinky, plísně a nesporulující bakterie. Optimální pH pro růst většiny plísní je poblíž neutrálního bodu, avšak mohou se rozmnožovat ve velmi širokém rozmezí pH[8].

Mikroorganismy jsou příčinou bombáží, tj. nafouknutí obalů plyny (CO_2, H_2) vzniklými činností kvasinek nebo určitých bakterií, které nebyly sterilací usmrceny nebo vnikly do obalu během chlazení a skladování. Plynotvorné bombáže jsou nejčastější, ojediněle se vyskytuje tzv. plynuprosté kysnutí, kdy nastává mikrobiologický rozklad s tvorbou kyselin z cukrů bez plynů. U málo kyselých potravin pH 3,8 až 4,5 (jedná se zejména o výrobky z rajčat) bombáž a změny způsobují *Bacillus coagulans, Cl. pasteurianum, Cl. butyricum, Bac. macerans, Bac. polymyxa,* kvasinky, koky, nesporulující tyčinky, plísně. U kyselých až velmi kyselých potravin, jako jsou kompoty, protlaky, kyselá zelenina, kečup, s hodnotou pH 2,5 až 3,8, bombáž a změny způsobují *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus thermophilus, Lactobacillus brevis, Leuconostoc, Micrococcus*, kvasinky a plísně. Příčinou mikrobiálních změn je například nedostatečná sterilace, masivní infekce suroviny, druhotná infekce netěsným obalem[7]

Použité metody při stanovení druhů mikroorganismů:
- Izolace mikroorganismů frakcionovaným roztěrem.
- Barvení preparátů podle Grama.
- Test na přítomnost katalázy.
- Zkouška tvorby plynu.
- ANAEROtest 23.

Testy citlivosti mikoorganismů na konzervační postupy:
- Stanovení termorezistence laktobacilů při teplotách 65, 70, 75 a 80°C
- Sledování růstu laktobacilů v závislosti na pH.
- Stanovení reakce laktobacilů na chemické ošetření substrátu.
  Modelová média byla tvořena MRS bujónem s koncentrací 2% NaCl. K tomuto živnému bujónu byla přidána konzervovadla o uvedených množstvích (viz. schéma). Bylo upraveno pH na příslušnou hodnotu a média byla vysterilována při 121°C po dobu 15 min.
- Stanovení reakce laktobacilů na chemické ošetření vzorku kečupu a dressingu.
  Za aseptických podmínek byl odebrán vzorek příslušné potraviny z malospotřebitelského balení do sterilní lékovky. Bylo přidáno přesně odvážené množství monolaurinu a směs byla rozmíchána mixerem.

Tabulka 1 - Označení vzorků pro mikrobiologická stanovení.

Monolaurin ($mg.kg^{-1}$)	vzorek kečupu	vzorek dressingu
0	1E	1F
100	2E	2F
200	3E	3F
500	4E	4F

Výsledky:

Ve zkažených vzorcích byly identifikovány:	
Výrobek:	Identifikovaný druh:
pasterovaný kečup, 300g	*Lactobacillus plantarum*
Majonéza, 250 g	*Lactobacillus delbrueckii*

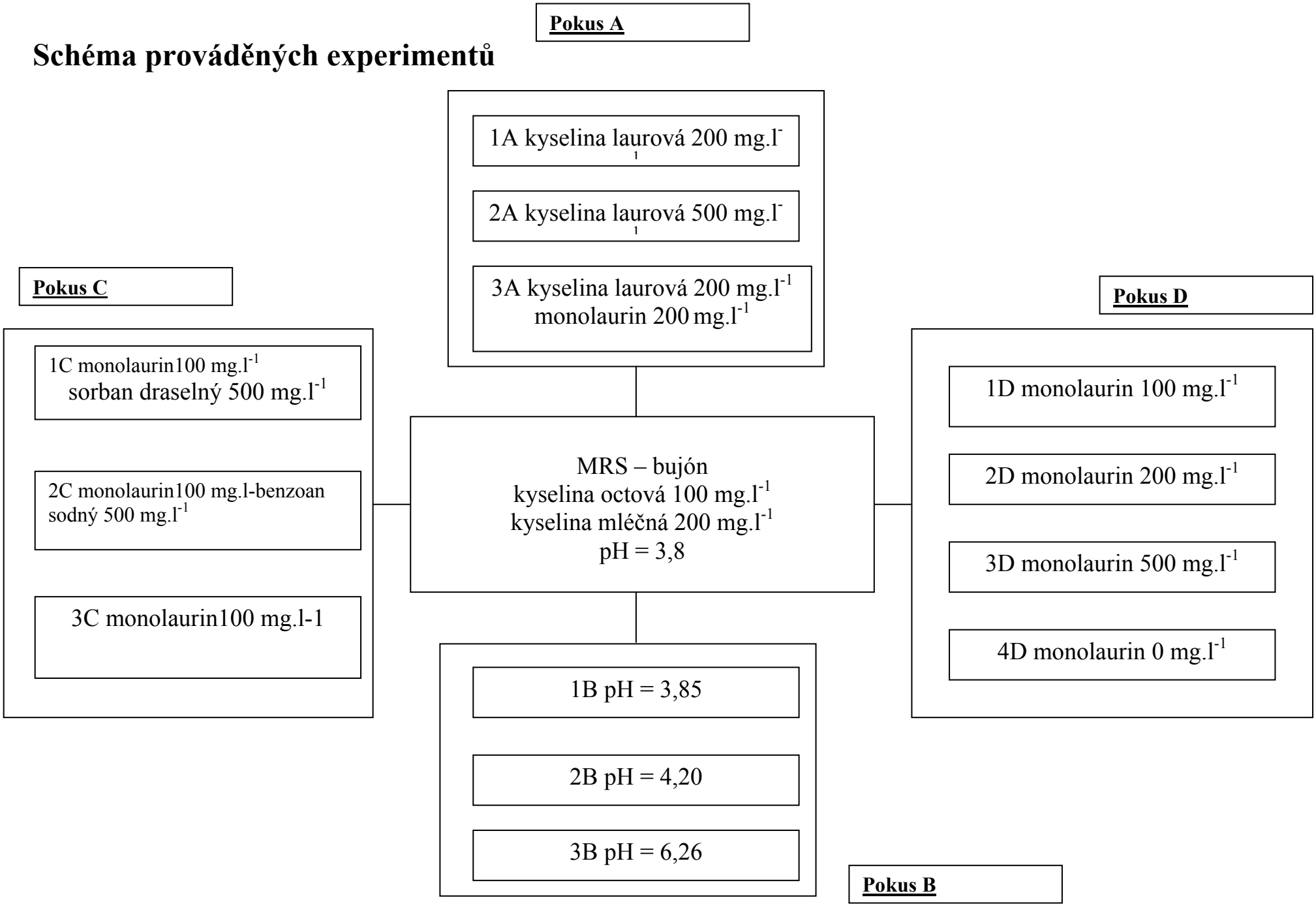
Testy byly prováděny na druhu:*Lactobacillus delbrueckii*

Vliv teploty na inhibici laktobacilů: D_{65}=1,18 (min), D_{70}=0,62 (min), D_{75}=037 (min), D_{80}=0,35 (min). Směrnice D-t
je hledaná z hodnota: z=25°C.
Byly určeny optimální hodnota pH pro růst laktobacilů (5,9-7,9 pH).

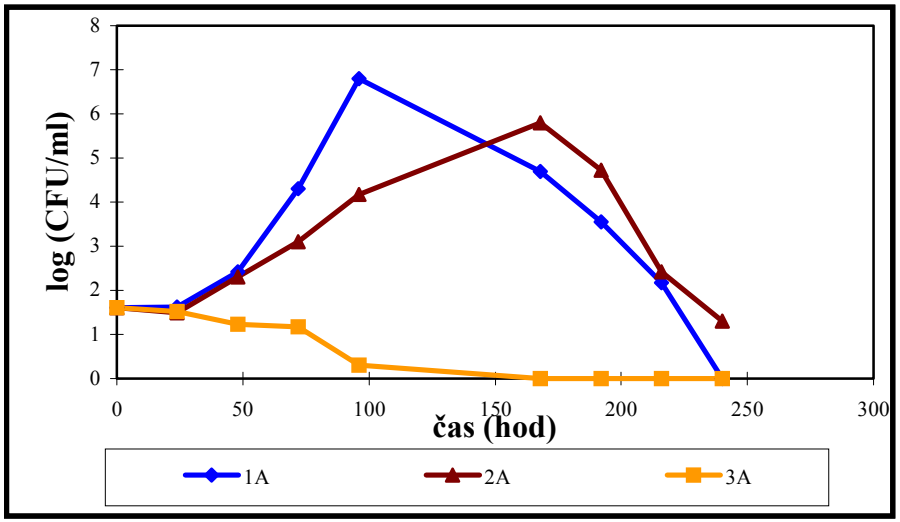
Závěr:
Z výsledků testovaného kmene lze vyvodit:
- Kyselina laurová má pouze velmi nízký inaktivační účinek než monolaurin.
- Inaktivační účinky monolaurinu byly zjištěny v celém rozsahu sledovaných koncentrací (od 100 do 500 $mg.l^{-1}$).
- Sorban draselný zvyšuje účinek monolaurinu více než benzoan sodný.
- Při použití monolaurinu do výrobku (kečup, dressing) byl zjištěn stejný účinek jako u zkoušených médií. V produktu-dressing byly konzervační účinky vyšší než u kečupu, v důsledku lepší rozpustnosti. (V prostředí kečupu došlo k prodloužení lag fáze.)

Poděkování:
Identifikace mikroorganismů byly prováděny na Ústavu technologie mléka a tuků. Autoři děkují uvedenému ústavu za pomoc a poskytnutí standardu monolaurinu.

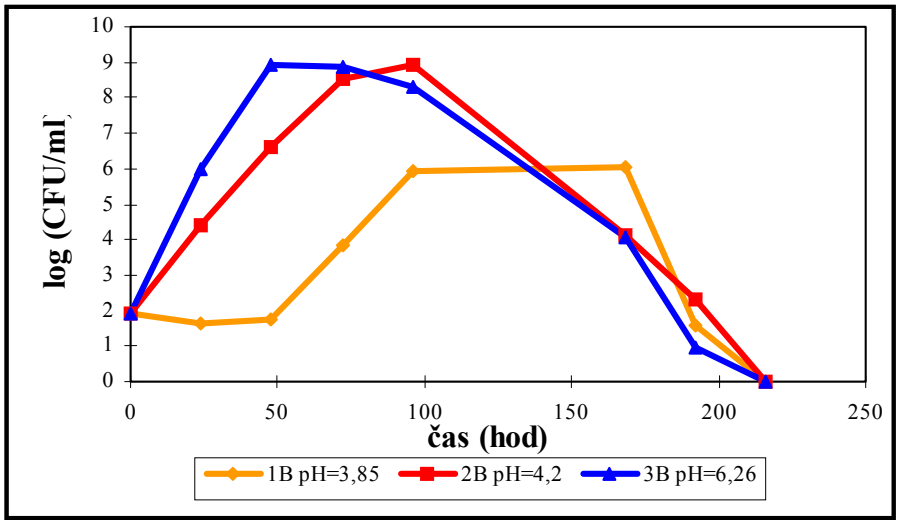
Schéma prováděných experimentů



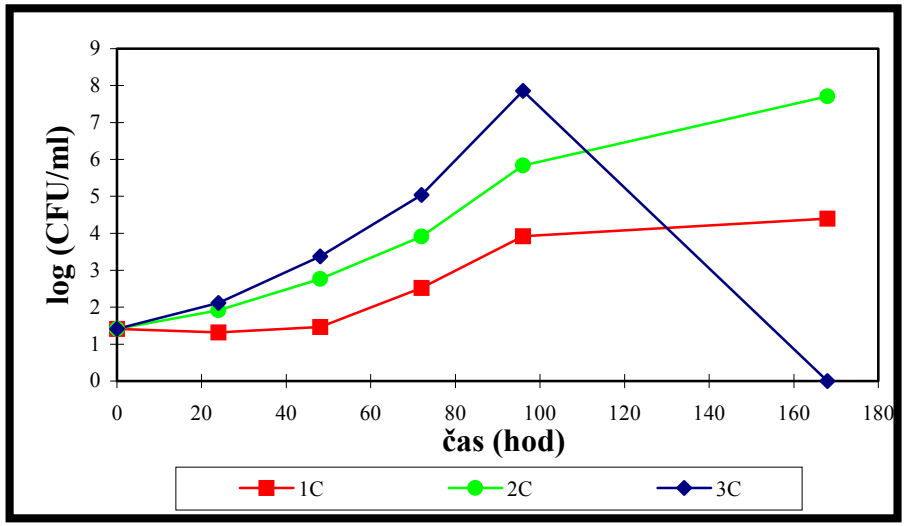
Graf 1- Vliv Graf 1- Vliv kyseliny laurové na růst lactobacilů (pokus A))



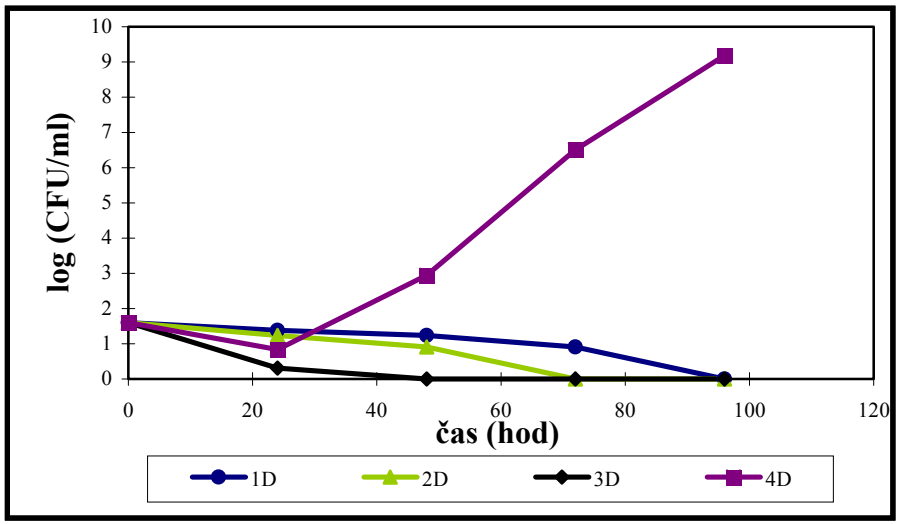
Graf 2 Vliv pH růstu laktobacilů (pokus B)



Graf 3- Vliv přídavku sorbanu a benzoanu zesilující účinky monolaurinu (pokus C)



Graf 4 – Vliv přídavku monolaurinu na růst laktobacilů (pokus D)



ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI VYBRANÝCH ROSTLINNÝCH EXTRAKTŮ

Hnilová M., Hladíková R., Drdák M.
Ústav chemie potravin a biotechnologie, Fakulta Chemická VUT, Purkyňova 118, 61600 Brno
e-mail: marketahnilova@centrum.cz

ÚVOD:

S rozvojem potravinářských technologiích se věnuje značná pozornost způsobům uchovávání rostlinných a živočišných produktů a z nich vyrobených potravin a zabránění jejich nežádoucím změnám. Mezi nejzávažnější změny patří mikrobiologický rozklad potravin. Klasické konzervační metody dnes již nesplňují vysoké nároky na kvalitu potravin. V současné době je při konzervaci potravin patrná snaha nahradit chemické konzervační prostředky látkami přírodními. Největší pozornost je věnována antimikrobiálním látkám rostlinného původu. Jsou to organické sloučeniny rozmanité povahy a struktury, mající inhibiční vliv na růst bakterií, kvasinek a plísní. Při konzervaci potravin jsou rostlinné antimikrobiální látky používány zatím pouze okrajově, ale šířka jejich použitelnosti může časem narůstat i podle výsledků předloženého projektu.

CÍLE:

- Testování rostlinných extraktů s potenciální antimikrobiální aktivitou, určení jejich antimikrobiálního spektra a inhibičních účinků na růst nežádoucích mikroorganismů v potravinářském průmyslu
- Stanovení optimálního extrakčního postupu na izolaci rostlinných antimikrobiálních látek
- Porovnání antimikrobiálních účinků rostlinných extraktů s účinky chemického konzervačního činidla – sorbanu draselného
- Stanovení dalších biologických vlastností rostlinných extraktů (antioxidační a antimutagenní vlastnosti)
- Chromatografická analýza rostlinných extraktů

METODY:

Testované rostliny:

sedmikráska obecná, kokoška pastuší tobolka, přeslička rolní, šalvěj lékařská

Testované mikroorganismy:

Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae, Zygosaccharomyces rouxii, Pichia farinosa, Hansenula anomala, Candida vini

Extrakce:

- Macerace v etanolu, příp. methanolu (7 dnů, při laboratorní teplotě), zahuštěný odparek rozpuštěn v etanolu METOH, $\mathbf{M_{METOH}}$
- Před macerací provedena kyselá hydrolýza $\mathbf{M_{HCl}}$, $\mathbf{M_{hydrol}}$, na stanovení antimutagenních vlastností byly použity extrakty připravené podle postupu viz. výše pouze rozpuštěny v DMSO $\mathbf{M_{hydrol}}^{*}$
- Extrakce v etanolu (2 hod., při teplotě 55°C), dále viz. výše $\mathbf{E_{ETOH}}$, příp. před extrakcí provedena kyselá hydrolýza $\mathbf{E_{hydrol}}$.
- Destilace vodní parou (1 hod.) $\mathbf{D_{destilát}}$, $\mathbf{D_{zbytek}}$.

Antimikrobiální vlastnosti:

- DDA – antimikrobiální vlastnosti rostlinných extraktů, standardů flavonoidů a sorbanu draselného byly studovány pomocí difuzní jamkové metody (jamky o průměru 8 mm, objem testovaných vzorků 50 µl, u *Escherichia coli* testovaný objem 100 µl). Velikost inhibičních zón byla odečítána v mm od okraje jamky a byla vyhodnocena ze tří oddělených pokusů. - (negativní) 0 – 1,5 mm, + (slabě pozitivní) 1,5 – 3,0 mm, ++ (pozitivní) 3,0 – 4,5 mm, +++ (silně pozitivní) 4,5 mm a více, 0 – nezjištěno.

- MIC – minimální inhibiční koncentrace rostlinných extraktů, standardů flavonoidů a sorbanu draselného na růst mikroorganismů byla testována na tuhých médiích s různým přídavkem testovaných vzorků. Minimální inhibiční koncentrace určena z viditelného poklesu růstu mikroorganismů proti růstu mikroorganismů na živném médiu bez přídavku. Minimální inhibiční koncentrace vyhodnocena ze tří oddělených pokusů.

- Vliv na růst a růstovou křivku mikroorganismů – vliv rostlinných extraktů a sorbanu draselného na růst mikroorganismů byl vyhodnocen z růstových křivek mikroorganismů. V různých časových intervalech byl sledován růst mikroorganismů přímým počítáním buněk resp. kolonií v médiích s různým přídavkem testovaných vzorků. Počet buněk v 1 ml média vyhodnocen ze tří měření.

Antioxidační vlastnosti:

- DPPH odbarvovací test – antioxidační aktivita rostlinných extraktů a standardů flavonoidů byla testována spektrofotometricky pomocí radikálového odbarvovacího testu. Antioxidační aktivita byla stanovena ze tří měření a byla vyjádřena jako úbytek absorbance (%).

Antimutagenní vlastnosti:

- Amesův test – rostlinné extrakty byly studovány Amesovým testem na auxotrofním mutantech *Salmonella typhimurium* TA98. Antimutagenní aktivita byla vyjádřena jako úbytek počtu kolonií (%). – (negativní) < 20%, + (slabě pozitivní) 20 - 40%, ++ (pozitivní) 40 – 60%, +++ (silně pozitivní) 60 – 80%.

Analýza rostlinných extraktů:

- Stanovení celkového obsahu flavonoidů – bylo zjištěno spektrofotometricky po reakci s dusitanem sodným, absorbance byla měřena při vlnové délce 395 nm proti, celkový obsah flavonoidů byl odečten z kalibračního grafu kvercetinu a přepočítán na hmotnostní %.

- HPLC analýza rostlinných extraktů a standardů flavonoidů – na stanovení flavonoidů metodou HPLC - DAD byla použita chromatografická kolona Supelcosil LC–18-DB, mobilní fáze acetonitril: methanol: voda s 85% H_3PO_4 (voda: H_3PO_4 99,85: 0,15) v poměru 2,5: 1: 6,5. Detekce byla provedena při vlnové délce 257 nm, dávkovaný objem byl 10µl, použité standardy flavonoidů: kvercetin a rutin.

VÝSLEDKY:

A. ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI

TAB. 1. Antimikrobiální aktivita rostlinných extraktů, standardů flavonoidů a sorbanu draselného – DDA

Sedmikráska obecná	Bacillus subtilis	*Micrococcus luteus*	*Escherichia coli*
M_{METOH}	+++	+++	+++
M_{ETOH}	++	+++	++
M_{hydrol} *a	+++	+++	+++
M_{HCL} a	++	+++	++
E_{ETOH}	+	++	++
E_{hydrol}	++	+++	++
$D_{destilát}$	0	0	0
D_{zbytek}	0	0	0
Kvercetin			
0,1 mg/ml	-	-	-
1mg/ml	-	-	-
10 mg/ml	0	0	0
Rutin			
0,1 mg/ml	-	-	-
1mg/ml	-	-	-
10 mg/ml	0	0	0
Sorban draselný			
1 mg/ml	-	-	-
10 mg/ml	+	+++	+
Etanol	-	-	-

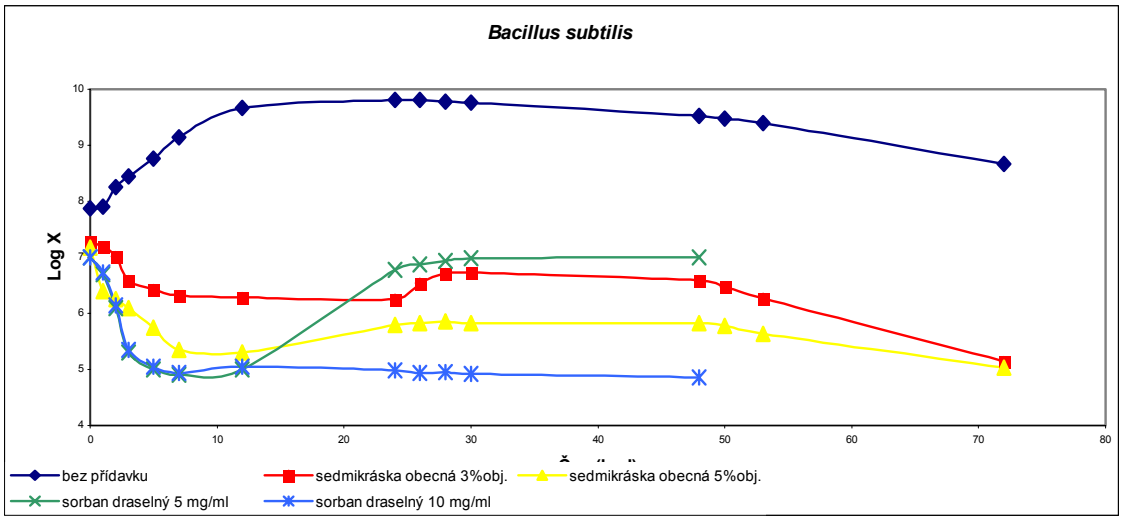
TAB. 2. Antimikrobiální aktivita rostlinných extraktů, standardů flavonoidů a sorbanu draselného – DDA

Sedmikráska obecná	*Sacchar. cerevisiae*	*Zygosacch. rouxii*	*Pichia farinosa*	*Hansenula anomala*	*Candida vini*
M_{METOH}	+++	+	-	++	+++
M_{ETOH}	+++	+	-	++	++
M_{hydrol} *a	+++	++	-	++	+++
M_{HCL} a	+++	++	-	++	+++
E_{ETOH}	++	+	-	+	++
E_{hydrol}	+++	+	-	++	+++
$D_{destilát}$	+	-	-	-	0
D_{zbytek}	++	-	-	-	0
Kvercetin					
0,1 mg/ml	-	-	-	-	-
1mg/ml	-	-	-	-	-
10 mg/ml	-	-	-	-	-
Rutin					
0,1 mg/ml	-	-	-	-	-
1mg/ml	-	-	-	-	-
10 mg/ml	-	-	-	-	-
Sorban draselný					
1 mg/ml	++	++	+	++	++
10 mg/ml	+++	+++	+	+++	+++
Etanol	-	-	-	-	-

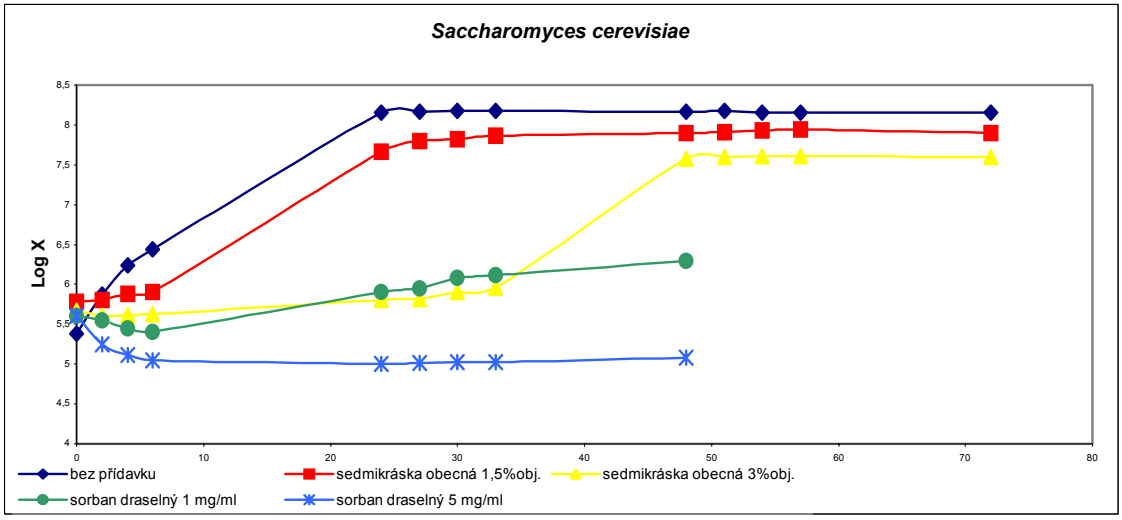
TAB. 3. Minimální inhibiční koncentrace rostlinných extraktů, standardů flavonoidů a sorbanu draselného – MIC

	Bacil. subtilis	*Microc. luteus*	*Escherich. coli*	*Sacchar. cerevisiae*	*Zygosacch rouxii*	*Pichia farinosa*	*Hansenula anomala*	*Candida vini*
Sedmikráska obecná	3% obj.	1%obj.	5%obj.	3%obj.	1%obj.	1%obj.	1%obj.	1%obj.
Kvercetin	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml
Rutin	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml	>10 mg/ml
Sorban draselný	5 mg/ml	5 mg/ml	>10 mg/ml	2 mg/ml	3 mg/ml	5 mg/ml	3 mg/ml	3 mg/ml

GRAF 1. Vliv extraktu sedmikrásky obecné a sorbanu draselného na růstovou křivku mikroorganismů *Bacillus subtilis*

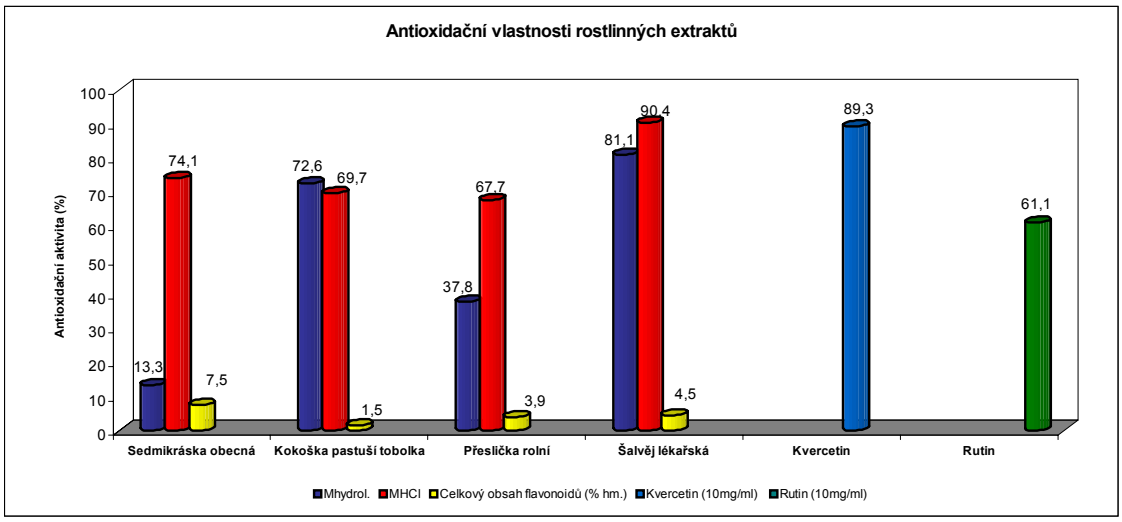


GRAF 2. Vliv extraktu sedmikrásky obecné a sorbanu draselného na růstovou křivku mikroorganismů *Saccharomyces cerevisiae*



B. ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI

GRAF 3. Antioxidační aktivita rostlinných extraktů a standardů flavonoidů – DPPH test



C. ANTIMUTAGENNÍ VLASTNOSTI

TAB. 3. Antimutagenní vlastnosti rostlinných extraktů a standardů flavonoidů

	Toxicita	*Mutagenita*	*Antimutagenita*
Sedmikráska obecná	-	-	+
Kokoška pastuší tobolka	-	-	+
Přeslička rolní	-	-	+
Šalvěj lékařská	-	-	+
Kvercetin	-	-	+
Rutin	-	-	+

ZÁVĚRY:

- největší antimikrobiální účinky vykazovaly extrakty připravené macerací s předchozí kyselou hydrolýzou M_{hydrol}
- největší antimikrobiální aktivitu a antimikrobiální spektrum vykazovaly extrakty připravené ze sedmikrásky obecné
- 3%obj. přídavek extraktu sedmikrásky obecné vykazoval na růst *Bacillus subtilis* stejné inhibiční účinky jako sorban draselný o výsledné koncentraci 5 mg/ml, na růst *Saccharomyces cerevisiae* měl stejné inhibiční účinky jako sorban draselný o výsledné koncentraci 1 mg/ml
- větší antimikrobiální aktivitu vykazovaly rostlinné extrakty proti Gram-pozitivním bakteriím a kvasinkovitým mikroorganismům než proti Gram-negativním bakteriím
- rostlinné extrakty ze všech testovaných rostlin vykazovaly antioxidační aktivitu srovnatelnou s antioxidačním účinkem kvercetinu o koncentraci 10 mg/ml
- všechny testované rostlinné extrakty vykazovaly slabý antimutagenní účinek

PODĚKOVÁNÍ:
Práce byla vypracována za podpory grantu FRVŠ č. 1886/2002.

OBSAH VYBRANÝCH NUTRIENTŮ VE STRAVĚ PODÁVANÉ DĚTEM VE DVOU PRAŽSKÝCH MATEŘSKÝCH ŠKOLÁCH

Réblová Z., Elich O., Danihelková J., Eliášová K., Ferdinandová O., Hodboďová V., Karlová M., Michovská S., Škaloudová P., Vilímková M.
Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6

Při hodnocení významnosti rizik spojených s příjmem potravin (mikrobiologická čistota, přítomnost a obsah kontaminujících látek, používání aditiv, …) je za nejzávažnější považováno celkové složení diety. Ve vyspělých zemích je to především nadbytečný příjem energie, vysoký příjem tuků, nevhodné složení mastných kyselin a vysoký příjem soli. Často je to však i nedostatečný příjem některých mikronutrientů, zejména vitaminů s antioxidačním působením a některých minerálních látek (například vápníku) a stopových prvků. Ačkoliv složení diety (a celkový způsob stravování) je u většinové populace vyspělých zemí ve velké míře otázkou vlastního rozhodnutí a celkového životního stylu (životních priorit), celá řada sociálních skupin je odkázána na společné stravování s omezeným nebo dokonce žádným výběrem pokrmů ze širší nabídky. Mezi takovéto skupiny patří například staří lidé v domovech důchodců, učňovská mládež, vojsko či děti v předškolních zařízeních (zejména mateřských školách). Správné stravování posledně jmenované skupiny (tj. dětí předškolního věku) lze přitom považovat za zvláště důležité, neboť kromě výrazného vlivu složení stravy na správný fyzický i duševní vývoj dětí se v tomto období vytváří stravovací návyky a chuťové preference, které se v pozdějším věku jen velmi obtížně mění.
Pro posuzování výživové jakosti stravy (tj. obsahu jednotlivých nutrientů v této stravě) se (z ekonomických důvodů) nejčastěji používají různé výpočetní způsoby (v současné době téměř výlučně využívající specializované počítačové programy), které pracují s databázemi typického složení jednotlivých potravin, recepturami pokrmů a odhady změn jednotlivých živin při kulinárním zpracování potravin. Doplňkem těchto výpočtů by však měly být i analytické rozbory hotových pokrmů (nebo sestav těchto pokrmů), a to především pro testování validity jednotlivých výpočetních systémů a pro studium změn jednotlivých nutrientů během různých způsobů finálního zpracování potravin.
V souvislosti s těmito fakty byl na Ústavu chemie a analýzy potravin Vysoké školy chemicko-technologické v Praze zahájen projekt, jehož cílem je v této fázi vývoj a validace analytických metod pro stanovení vybraných nutrientů v komplexních potravinových vzorcích typu homogenizátů celodenních diet a následný monitoring přijmu těchto nutrientů celodenní stravou podávanou ve vybraných zařízeních společného stravování uzavřeného typu s minimální možností strávníků ovlivňovat složení diety. Cílem tohoto monitoringu jsou pak nejen primárně získaná data, ale především vytvoření databáze pro následné testování validity výpočetních programů pro určení výživové jakosti (obsahu jednotlivých nutrientů) hotových (kulinárně upravených) pokrmů.
V rámci tohoto dlouhodobého projektu byl v letošním školním roce (v rámci předmětu Laboratoř z analýzy pokrmů vyučovaném na Ústavu chemie a analýzy potravin VŠCHT Praha pro 5. ročním studijního zaměření Výživa a stravování (oboru Chemie a analýza potravin)) sledován obsah vybraných nutrientů ve stravě podávané dětem ve dvou mateřských školách (A a B) působících na území Prahy 6, a to v pěti po sobě následujících pracovních dnech (v období od 29.10. do 2.11.2001).

Materiál a metody:

Odběr a základní zpracování vzorků:

Ekvivalentní porce všech jídel podávaných dětem v průběhu celého dne (tj. dopolední svačina, oběd a odpolední svačina), včetně nápojů, byly personálem kuchyní shromažďovány do plastových nádob o vhodné velikosti, za dodržení přiměřených hygienických podmínek, přičemž pokrmy podávané v daném zařízení v průběhu jednoho dne byly spojovány jako 1 vzorek. Takto odebrané vzorky byly

skladovány v chladničce maximálně 24 hodi n, poté byly (po odstranění nejedlých podílů) zváženy a homogenizovány v laboratorním mixéru, za přídavku známého množství vody. Z takto získaného homogenizátu byly odebrány laboratorní vzorky pro jednotlivá stanovení, které byly až do provedení rozborů skladovány při teplotě –18 °C.

Sledované ukazatele a jejich stanovení:

V homogenizátech byly stanoveny voda (resp. sušina, sušením do konstantní hmotnosti při teplotě 105 °C), bílkoviny (jako celkový dusík, metodou podle Kjeldahla), tuk (extrakcí suspenze vzorku v amoniakálním ethanolu směsí diethyletheru a petroletheru), vitamin E (resp. jednotlivé tokoferoly, metodou HPLC s amperometrickou detekcí, po extrakci směsi vzorku s bezvodými síranem sodným hexanem v Soxhletově extraktoru) a vápník, hořčík, železo, zinek a měď (metodou plamenové AAS, po mineralizaci vzorků na suché cestě).

Zpracování primárních výsledků:

Zjištěné obsahy jednotlivých nutrientů byly přepočteny na příjem těchto látek (vynásobením celkovou hmotností homogenizátu, u příjmu vody s korekcí na vodu přidanou při homogenizaci a u příjmu vitaminu E s ohledem na rozdílnou fyziologickou aktivitu jednotlivých tokoferolů). Vzhledem k tomu, že hrubý energetický příjem vypočtený z příjmu hlavních živin (bez korekce na příjem vlákniny a popela) byl u mateřské školy B mírně a u mateřské školy A výrazně vyšší než příjem doporučený (resp. než jeho část odpovídající obědu a oběma svačinám), byl příjem všech nutrientů přepočítán na příjem energie 4000 kJ.

Výsledky a diskuse:

Příjem jednotlivých nutrientů (vztažený na energetický příjem 4000 kJ, viz výše) v obou mateřských školách je shrnut v tabulce I. V této tabulce jsou uvedeny také použité referenční doporučené denní dávky (DDD) jednotlivých nutrientů [1]. Z této tabulky je patrné, že mezi sledovanými mateřskými školami není výraznější rozdíl v kvalitě podávané stravy. Za jediný významnější rozdíl lze přitom považovat rozdílný příjem tuku (průměrně 31,9 g u mateřské školy A proti 25,5 g u mateřské školy B), což se projevilo i v rozdílném podílu tuku na celkovém energetickém příjmu (31 % u mateřské školy A a 25 % u mateřské školy B). Z hlediska výživových doporučení však lze obě tyto hodnoty považovat za přijatelné [2].

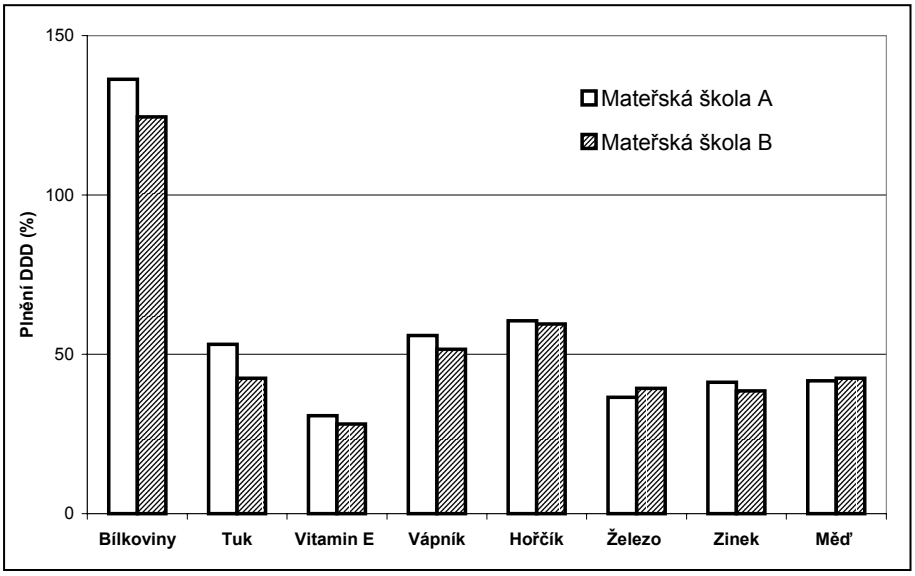
Tab. I: Příjem vybraných nutrientů stravou podávanou v mateřských školách A a B (vztažený na energetický příjem 4000 kJ)

		Bílkoviny (g)	Tuk (g)	Vitamin E (mg TE)	Vápník (mg)	Hořčík (mg)	Železo (mg)	Zinek (mg)	Měď (mg)
Mateřská	Průměr	36,8	11,9	2,46	503	121	3,65	4,12	0,50
škola A	Minimum	25,1	29,9	1,80	228	103	2,50	3,38	0,39
	Maximum	52,0	33,6	3,63	636	164	5,12	5,52	0,60
Mateřská	Průměr	33,6	25,5	2,25	464	119	3,93	3,85	0,51
škola B	Minimum	24,3	22,5	1,02	359	90	2,59	2,24	0,25
	Maximum	42,4	30,6	3,29	677	134	7,93	5,46	0,99
DDD [1]		27	60	8	900	200	10	10	1,2

Je však nutné znovu zdůraznit, že hodnoty uvedené v tabulce I představují příjem jednotlivých nutrientů vztažený na jednotný energetický příjem. Za referenční přitom byla vzata hodnota 4000 kJ, což je přibližně 53 % celkového doporučeného denního příjmu energie pro tuto věkovou kategorii [1]. Tento podíl (tj. 50 až 55 %) přitom odpovídá společnému podílu obou svačin a oběda na celodenní stravě při ideálním rozložení příjmu energie mezi jednotlivá denní jídla.

Skutečný energetický příjem byl však u mateřské školy B mírně vyšší než tato hodnota a u mateřské školy A výrazně vyšší.

Velmi dobrá shoda v kvalitě stravy podávané v obou mateřských školách je poměrně překvapivá, neboť obě tyto školy byly součástí sledování provedeného s přibližně půlročním předstihem [3, 4], v rámci kterého byl sledován příjem vitaminu E stravou podávanou v 6-ti pražských mateřských školách (opět po dobu jednoho pracovního týdne). V rámci tohoto sledování se mateřské školy A a B (v citovaných publikacích uváděné pod označením I (= mateřská škola A) a VI (= mateřská škola B)) výrazně odlišovaly a představovaly krajní polohy celého souboru. Zatímco v mateřské škole B byl průměrný denní příjem vitaminu E 4,28 mg α-tokoferol ekvivalentů (TE), v mateřské škole A byl tento příjem jen 1,98 TE.



Obr. 1: Porovnání příjmu vybraných nutrientů s jejich doporučenými denními dávkami

Obrázek 1 pak porovnává průměrný příjem sledovaných nutrientů (opět vztažený na energetický příjem 4000 kJ) s denními doporučenými dávkami těchto nutrientů [1]. Jak již bylo uvedeno, oběd a obě svačiny by měly představovat 50 až 55 % celkového denního příjmu stravy. Za referenční hodnotu pro posouzení kvality stravy podávané v mateřských školách je tedy nutné považovat ne doporučené denní dávky jednotlivých nutrientů, ale vždy 50 % této hodnoty. Z tohoto hlediska lze za prakticky ideální považovat příjem tuku, vápníku a hořčíku a za ještě dostačující příjem mědi a zinku.

Výrazně vyšší než nejnovější výživová doporučení [1, 5] je pak příjem bílkovin v obou mateřských školách. Tato disproporce však souvisí především s vývojem výživových doporučení v této oblasti v posledních letech, neboť česká denní doporučená dávka bílkovin pro tuto věkovou kategorii z roku 1989 byla 60 g [5], tedy více než dvojnásobná proti doporučením novějším [1, 5]. Z hlediska tohoto staršího výživového doporučení by příjem bílkovin v obou mateřských školách byl rovněž prakticky ideální (61 % DDD u mateřské školy A a 56 % u mateřské školy B).

Naopak nižší příjem než odpovídá příjmu doporučenému byl zaznamenán u železa a především u vitaminu E. Ačkoliv příjem železa byl srovnatelný s příjmem zinku a mědi a pohyboval se na úrovni 40 % denní doporučené dávky (37 % u mateřské školy A a 39 % u mateřské školy B), lze (na rozdíl od zinku a mědi) tuto hodnotu považovat již za relativně nízkou. Pokud totiž srovnáme příjem železa s již zmiňovanými staršími českými výživovými doporučeními [5], kde je denní doporučená dávka tohoto prvku pro danou věkovou kategorii vyšší (12 mg/den) než referenční hodnota použitá v této práci (10 mg/den), představoval by příjem železa stravou podávanou

v mateřských školách jen 30 (u mateřské školy A), resp. 33 % (u mateřské školy B) celodenního ideálního příjmu.

Velmi nízký příjem vitaminu E (31 (u mateřské školy A), resp. 28 % (u mateřské školy B) celodenního doporučeného příjmu) je pak nutné považovat za nejzávažnější zjištěný výživový nedostatek (vedle zjištěného vyššího energetického příjmu, viz dříve). Toto zjištění je v souladu s výsledky již zmiňovaných předchozích studií [3, 4] a také s literárními údaji [6-10]. Příjem vitaminu E stravou podávanou v pražských mateřských školách by přitom měl být vyšší než 4 mg TE/den (tj. než 50 % DDD), a to jednak s ohledem na znečištění životního prostředí v rámci pražské aglomerace, ale také s ohledem na celkovou kvalitu stravování dětské populace v ČR. Například Šoltysová a kol. [11], kteří zkoumali podíl školních obědů na stravě desetiletých dětí, totiž dospěli k závěru, že pouze tento oběd dodává dětem až 47 % reálného denního příjmu vitaminu E (přičemž na energetickém příjmu se oběd ve sledované skupině podílí průměrně jen 28 %). To naznačuje vyšší nutriční kvalitu stravy podávané v rámci školního stravování oproti stravě podávané v rodinách. Podobnou situaci lze přitom očekávat i u dětí předškolního věku, a to především s ohledem na možné zanedbávání snídaní.

Závěry:

Jak již bylo uvedeno v úvodu, hlavním cílem tohoto projektu není posouzení úrovně stravování v daných mateřských školách, ale především vytvoření databáze pro následné testování validity různých výpočetních programů určených pro výpočet příjmu jednotlivých nutrientů. Přesto lze na základě zjištěných výsledků (a po jejich srovnání s výsledky předchozími [3, 4]) konstatovat, že výživová jakost stravy podávané v mateřských školách není vždy ideální. V této souvislosti je nutné apelovat na rodiče (a prarodiče) dětí navštěvujících tato zařízení, aby se při jejich výběru zajímali nejen o doplňkové pedagogické aktivity jednotlivých zařízení a další faktory, ale také o úroveň stravování v těchto zařízeních, neboť, jak již bylo uvedeno, strava podávaná v mateřské škole představuje více jak polovinu celodenní stravy těchto dětí. Tlak informovaných rodičů lze přitom považovat za potenciálně účinnější nástroj ke zlepšení této situace než působnost orgánů státní správy.

Literatura:

Kovačiková E., Vojtaššáková A., Simonová E., Holčíková K.: Potravinové tabulky, NOI-ÚVTIP, Bratislava 1997.
Pánek J., Pokorný J., Dostálová J.: Základy výživy a výživová politika, VŠCHT, Praha 2002.
Hrubešová L.: Diplomová práce, VŠCHT, Praha 2001.
Réblová Z., Hrubešová L., Trojáková L.: ve sborníku z konference Vitaminy 2001 (Pardubice 5.-6.9.2001), Universita Pardubice 2001, strana L24-L24/4.
Dlouhý P., Anděl M.: Hyg. 41 (1996) 275-294.
Murphy S.P., Subar A.F., Block G.: Am. J. Clin. Nutr. 52 (1990) 361-367.
Brázdová Z., Fiala J., Klímová A.: Čs. Hyg. 38 (1993) 77-81.
Béderová A., Kudláčková M., Šimonič R., Grančičová E., Magálová T., Brtková A.: Hyg. 42 (1997) 92-98.
Šoltysová T., Fajfrová S., Strachová Z., Suková I.: Čs. Hyg. 38 (1993) 333-336.
Palmero M.R., Castellote-Bargalló A.I., López-Sabater C., de la Torre-Boronat C., Rivero-Urgell M.: Food Chem. 61 (1989) 215-221.
Šoltysová T., Tučková V., Mazánková J., Steklá A.: Čs. Hyg. 38 (1993) 278-280.

Autoři děkují Doc. Ing. Janu Pánkovi, CSc. a Dr. Ing. Richardu Koplíkovi za poskytnuté konzultace a Odboru provozu škol Prahy 6 a zaměstnancům obou mateřských škol za umožnění odběru vzorků a pomoc s tímto odběrem.

Specialisté v oboru molekulové spektroskopie

FT-IR, FT-NIR, FT-Raman, Raman, příslušenství, databáze spekter

Infračervená a Ramanská mikroskopie, mapování, imaging

Rutinní i vědecké svstémv. vývoi metod a automatizace

ANALYZÁTOR SÝRŮ

FT –NIR spektrometr Avatar 360 N
spolehlivý a snadno použitelný spektrometrický systém

- stanovení obsahu sušiny a tuku během 90 sekund
- záznam spektra v rozsahu 11.000 – 4.000 cm^{-1}
- směrodatná odchylka 0,3 % pro stanovení sušiny v horké tavenině
- směrodatná odchylka 0,4 % pro stanovení tuku v horké tavenině
- možnost stanovení celkového obsahu bílkovin a dalších parametrů
- zakázkový vývoj analytických metod včetně automatizace stanovení
- bezplatné předvedení přístrojů s možností měření vlastních vzorků

Od 1. ledna 2002
nové aplikační, servisní a obchodní středisko:

Nicolet CZ s.r.o.
Nad Trnkovem 11
106 00 Praha 10

T/F: (2) 7276 0432, (2) 7276 8569
Mobil: 0602/325829, 0603/554788, 0603/725812

E-mail: nicoletcz@nicoletcz.cz
www.nicoletcz.cz

ThermoNicolet
FTIR, FTNIR, Raman, Microscopy

Kvalita spektrometrů Nicolet ověřena více než 160 uživateli v ČR a SR.

HARRER KASSEN

PROCESNÍ ZAŘÍZENÍ NA BÁZI MIKROVLNNÉHO VLNĚNÍ
PRO SLEDOVÁNÍ OBSAHU VODY NEBO SUŠINY

Technické parametry

Výstup - 0/4 - 20 mA
Sledování teploty
RS 232

Použití v potravinářství

jogurty, marmelády,
rajčatové výrobky,
cukr, máslo atd.

Výhradní zastoupení pro Českou a Slovenskou republiku

Radomír Polz, U Opatrovny 217, Police n. M.,
tel.:0602/649663, 0777/649663, e-mail:polz@wo.cz

RADANAL s.r.o.

Okružní 613, 530 03 Pardubice
tel.: 040/ 66 50 618 fax: 040/ 66 51 171 mobil: 0603/ 440 318
e-mail: radanal.biochem@worldonline.cz Internet: www.radanal.cz

Společnost se věnuje vývoji chromatografických metod pro studium působení látek na oxidativní metabolismus, stárnutí, lidské chování, výkonnost, krásu, prevenci a včasnou diagnostiku civilizačních chorob.

organizujeme vzdělávací kurz

VITAMÍNY 2002

Přírodní antioxidanty

Aula Univerzity Pardubice, 3. - 5. září 2002

výhradně zastupujeme:

ESA, Inc. (HPLC systémy s elektrochemickými detektory Coulochem II, CoulArray)

ENTECH INSTRUMENTS, Inc. (GC systémy, koncentrátory VOC, Silonite™ kanystry)
PICOMETRICS (LIF detektory pro mikrokolonovou HPLC a CE)

dodáváme:

SGT (trapy pro čištění plynů pro plynovou chromatografii a LC-MS, desorpční trubičky)

MERCK (chemikálie, chromatografické kolony, laboratorní potřeby)

SIGMA, ALDRICH, SUPELCO, FLUKA, Riedel-de Haën, (materiál pro chromatografii, chemikálie a standardy, Hydranal)

ILS (mikrostříkačky), **Hamilton** (mikrostříkačky a kolony), **METACHEM, SHISEIDO** (HPLC kolony)
AGILENT TECHNOLOGIES (Analytické přístroje a spotřební materiál)

Obsah

	Sborník příspěvků	**1**
Klanica M.	Současné směry kontrolní činnosti z pohledu ČZPI (abstrakt)	**2**
Slanec E.	Současné veterinární požadavky na výrobu a hodnocení potravin ve vztahu k legislativě ČR a EU (abstrakt)	**3**
Turek B.	Současné podklady k hodnocení rizikových látek v potravinách	**4**
Kocourek V.	Legislativní vývoj v oblasti chemických požadavků na potraviny a zkoušení potravinářských výrobků	**6**
Míková K.	Správná hygienická / výrobní praxe	**10**
Prugar J.	Povinné označování hovězího masa při prodeji	**13**
Pivoňka J., Cahlíková N., Voldřich M., Čeřovský M.	Využití prediktivní mikrobiologie v analýze nebezpečí	**15**
Táborská S., Královský J., Bunčeková S.	Stanovení prolinu ve včelím medu jako indikátor pravosti medu	**20**
Ruttkay-Nedecký, B., Rohánková, L., Možná, M., Kučera, P.	Real-time PCR pro kvantitativní stanovení obsahu GMO ve vzorcích potravin pomocí přístroje Lightcycler	**24**
Piknová Ľ., Štefanovičová A., Farkaš P., Kuchta T.	Dôkaz sóje v mäsových výrobkoch metódou PCR a analýzou sterolov	**27**
Bohačenko I., Špicner J., Kopicová Z.	Úloha výzkumu a současný stav v oblasti analytických metod pro průkaz autenticity potravin	**30**
Skálová P., Soukupová V., Voldřich M., Kvasnička F., Krátká J.	Autenticita kečupů – změny vybraných složek během výroby a distribuce	**34**
Vošmerová D., Vespalcová M., Mikušová R., Suský J.	Průkaz falšování červených vín pomocí anthokyanů různého původu	**40**
Lacko Ľ., Suhaj M., Belajová E.	Hodnotenie kvality ovocných štiav a nektárov podľa vybraných markerov autenticity	**44**
Čížková H., Kurtová L., Krátká J., Voldřich M.	Stanovení vaječného podílu ve vaječných likérech	**48**
Drobná Z.	Referenční standard pro senzorické hodnocení svíravé chuti černého čaje	**53**
Vítová E., Drdák M., Březina P.	Senzorické hodnocení plísňových sýrů	**57**
Jarošová A., Štěpková M.	Senzorické hodnocení tavených sýrů v závislosti na době chlazení	**61**
Grus J., Dobrý J., Pudil F.	Nové informační technologie pro potravinářské obrazové databáze	**65**
Jandásek J., Milerski M.	Ztráta masné šťávy a senzorické hodnocení jehněčího masa	**69**
Kučerová J.	Hodnocení jakosti těstovin	**71**
Mikulíková R., Prýma J., Havlová P.	Využití SPME/GC/MS při stanovení senzoricky aktivních látek v pivu a sladu	**74**
Bláha M., Veselý P., Basařová G.	Vliv kmene kvasnic na tvorbu oxidu siřičitého při pivovarském kvašení	**75**
Čížková H., Dobrý J., Fiala J., Vernerová J., Šídlová M.	Vliv technologie HGB na vlastnosti vyráběného piva	**78**

Šídlová M., Čepička J., Pivoňka J., Svobodová J.	Redukce obsahu plynných efluentů vznikajících při chmelovaru	**82**
Fiala J., Bláha M., Novák J., Sližová M., Čížková H., Vernerová J.	Průtoková cytometrie v pivovarství	**84**
Palmi P., Dostálek P., Votruba J., Šídlová M.	Model pro zrychlení procesu scezování při výrobě piva	**88**
Havlová P., Radová Z., Hajšlová J.	Mykotoxiny v pivovarských surovinách a jejich souvislost s gushingem.	**91**
Schulzová V., Hajšlová J.	Projekt EU FLAIR-FLOW 4: přínos evropského potravinářského výzkumu pro spotřebitele, odborníky ve zdravotnictví a pro průmysl	**92**
Pipek P., Jeleníková J. , Haberl A. , Bohuslávek Z.	Hodnocení jakosti jatečně upravených těl	**94**
Pipek P., Sarnovský L., Jeleníková J., Malý J.	Sledování intramuskulárního tuku u skotu	**99**
Bohuslávek Z.	Bioelektrická impedanční analýza a její použití k určení kvality potravinářských surovin	**103**
Bohuslávek Z., Pipek P., Malý J.	Použití BIA metody k odhadu složení jatečně upravených těl skotu	**107**
Kůtek T., Filip V., Šmidrkal J., Bartošová E.	Tukové násady na bázi definovaných strukturovaných triacylglycerolů	**111**
H. Opatová, R. Ševčík, M. Dufková	Možnosti povrchové dekontaminace minimálně opracované zeleniny.	**116**
Kubec R., Velíšek J., Musah R. A.	Sirné látky tzv. sladkého česneku (Tulbaghia violacea harv.)	**120**
Gregor T., Suchomelová L., Fišera M.	Stanovení zastoupení nutričně významných prvků v rostlině Amaranthus caudatus	**123**
Koutná K., Zimolka J.	Utváření sladovnických znaků jarního ječmene zaorávkou řepného chrástu	**126**
Prugar J., Davídek J.	Ekologické zemědělství a produkce biopotravin v České republice na počátku roku 2002	**130**
Máriássyová M.	Čučoriedky - zdroj antioxidantov	**132**
Filip V., Plocková M., Šmidrkal J., Melzoch K., Schmidt Š	Antioxidační a antimikrobiální vlastnosti resveratrolu	**135**
Cejpek K., Pavlíková L., Réblová Z., Velíšek J.	Antioxidační aktivita produktů Maillardovy reakce	**139**
Beinrohr E., Dzurov J., Helán V.	Rýchle a spoľahlivé stanovenie kyseliny askorbovej v potravinách	**143**
Koucký M., Kudrna V.	Vliv odlišných nutričních režimů na kvalitu hovězího masa	**146**
Kudrna V., Lang P., Mlázovská P.	Působení kukuřičné a vojtěškové siláže na jatečnou hodnotu a kvalitu masa býků ve výkrmu	**148**
Ševčík R., Čížková H., Voldřich M., Krátká J., Krupička Š.	Stanovení těkavých látek salámu	**153**
Staruch L., Volanský P., Lederleitnerová J., Budajová J., Vranková E., Štullerová Ľ.	Výskyt a obsah polyfosfátov vo vybraných mäsových výrobkoch	**157**
Vránová D., Fiala D., Drdák M.	Stanovení sójových isoflavonů v masových výrobcích metodou HPLC	**164**
Šustová K., Jankovská R.	Kvantitativní analýzy mléka NIR spektrometrem	**168**
Gabrovská D., Fiedlerová V., Holasová M., Mašková E., Rysová J., Ouhrabková J., Winterová R., Michalová A.	Nutriční hodnocení méně známých druhů pšenice (dvouleté sledování)	**172**
Gabrovská D., Vaculová K., Fiedlerová V., Holasová M., Mašková E., Milotová J., Nedomová L., Ouhrabková J. Rysová J.,	Nutriční a hospodářská charakteristika bezpluchého ječmene a ovsa	**177**

Winterová R., Michalová A.

Dobrý J., Pudil F., Grus J.	Rozlišení odrůd sladovnického ječmene metodou obrazové analýzy	**182**
Ehrenbergerová J.1, Havlová P.2, Šerhantová V.1	Variabilita obsahu pentozanů a β-glukanů v obilkách odlišných genotypů jarního ječmene	**186**
Hradecká D., Staszková L.,	Vliv vybraných ekologických faktorů na kvalitu pohanky	**190**
Buchtová V., Staruch L., Dodok L., Chomová Ľ.	Štúdium koncentrácie aminokyselín v bielom a čiernom korení	**194**
Zemanová J., Vespalcová M., Vránová D.	Stanovení sojových proteinů v potravinách metodou CZE	**196**
Skvrnová J., Blažková K., Hrušková M.	Uplatnění maturografu pro sledování změn vlastností pšeničného těsta a pečiva vlivem zlepšovacích přípravků	**199**
Vespalcová M., Horáková H., Svobodová A., Zdařilová A., Zemanová J., Drdák M.	Využití kapilární elektroforézy při analýze náhradních sladidel přírodního původu	**203**
Borkovcová I.	Verifikace expozičních dávek vitaminu komplexu B z potravin pro zvláštní výživu	**207**
Macová, E., Krkošková B.	Vplyv technológie na obsah kyseliny listovej a biotínu v rastlinných potravinách	**209**
Dostálová J., Slanina P., Hajšlová J., Kocourek V., Cuhra P., Staňková J.	Výživa a zdraví - sociologický průzkum.	**213**
Borkovcová I., Dofková M.	Expozice jódem z potravin spotřebního koše ČR v letech 1998 – 2001	**217**
Erban V., Vaculová K., Poledne R., Suchánek P., Beran M., Molík P.	Baktocereální preparát v pokusech "in vitro" a "in vivo"	**218**
Dušek M., Krátká J., Kvasnička F.	HPLC a CITP stanovení kyseliny glutamové v potravinách	**222**
Tovarová I., Čurda L., Parkányiová J., Moravcová J.	Frakcionace bílkovin syrovátky	**226**
Krátká J., Voldřich M. , Kvasnička F. ,Čížková H. , Ševčík R. , Maryška M., Dušek M.	Zákaly, sraženiny a mechanické nečistoty v nápojích, metody detekce, příklady	**230**
Strohalm J., Landfeld A., Novotná P., Kýhos K., Houška M.	Vliv ošetření velmi vysokým tlakem na mechanické vlastnosti zeleniny	**235**
Strohalm J., Landfeld A., Novotná P., Kýhos K., Houška M.	Vliv vysokého tlaku na reologické vlastnosti a zdravotní nezávadnost žloutků	**239**
Peroutka R., Schulzová V., Hajšlová J.	Sledování hladin furanokumarinů v zelenině	**243**
Calta P., Doležal M., Velíšek J.	Obsah a vznik 3-chlorpropan-1,2-diolu	**247**
Králová J., Hajšlová J., Rieglová P., Radová Z.	Vývoj metody pro stanovení alternariových mykotoxinů	**253**
Fišera M., Drexlerová M., Gregor T.	Toxické prvky v nápojích	**258**
Čajka T., Šetková L., Hajšlová J.	Vývoj analytické metody pro stanovení alkylfenolů ve vzorcích vodního ekosystému	**262**
Suchan P., Hajšlová J., Roche K., Kučerová M.	Persistentní organochlorové polutanty v potravním řetězci vyder - pilotní studie realizovaná v ČR v roce 2001	**267**
Kazda R., Šetková L., Hajšlová J.	Bromované flame retardanty (BFR) v českém vodním ekosystému	**271**
Ružičková A., Majeríková I., Jányi I., Petríková J.	Možnosti vzniku rezistencie mikroorganizmov k sanitačným prostriedkom	**274**
Žužálková L., Šandová P., Librová I., Zídková J., Petkov Ž., Káš J., Sajdok J.	Rostlinné alergeny a jejich křížové reakce (abstrakt)	**276**

Schenková N., Marek M., Voldřich M.	Vliv vysokého hydrostatického tlaku na stabilitu enzymů	**277**
Dodok L., Buchtová V., Hozová B., Staruch L., Šiška R.	Moderné trendy pri výrobe pečiva	**280**
Adamiec J., Doležal M., Míková K. Davídek J.	Identifikace těkavých látek vajec	**283**
Doležal M., Míková K.	Stabilita polynenasycených mastných kyselin při kulinárních úpravách vajec	**286**
Novotný O., Michovská S., Velíšek J.	Oxidativní degradace D-glukosy a D-fruktosy peroxidisíranem	**290**
Kohoutková J.	Stanovení thujonu v absinthu	**296**
Standara S.	Tvorba lysinoalaninu v bílkovinách živočišného původu	**299**
Svejkovská B., Doležal M., Velíšek J.	Analýza esterů chlorpropanolů metodou GC/MS	**304**
Poláková M., Márová I., Hiemer J., Kotrla R., Valášek P., Drdák M.	Antioxidanty a jejich vliv na lidské zdraví	**309**
Voldřich M., Ševčík R., Kvasnička F., Melzoch K., Velíšek J.	Antioxidační vlastnosti lihovin	**313**
Kováčová M., Takácsová M., Maceková A.	Významné pôsobenie flavonoidov kelu na ľudský organizmus	**318**
Paulíčková I., Vyžralová K. , Holasová M., Fiedlerová V. , Vavreinová S.	Pohanková nať v potravinách	**323**
Karabín M., Čepička J., Hofta P.	Studium vybraných faktorů ovlivňujících antioxidační vlastnosti chmelových polyfenolů	**328**
Očenášková J., Kopecký J.	Karotenoidní pigmenty – potravní doplňky	**332**
Fabíková I., Oldřich M., Ševčík R., Čeřovský M.	Mikroflóra kyselých potravin, možnosti její inhibice	**336**
Hnilová M., Hladíková R., Drdák M.	Antimikrobiální vlastnosti vybraných rostlinných extraktů	**340**
Réblová Z., Elich O., Danihelková J., Eliášová K., Ferdinandová O., Hodboďová V., Karlová M., Michovská S., Škaloudová P., Vilímková M.	Obsah vybraných nutrientů ve stravě podávané dětem ve dvou pražských mateřských školách	**345**
	Thermo Nicolet	**349**
	Harrer Kassen	**350**
	Radanal	**351**
	Obsah (program symposia)	**352**
	Rejstřík autorů	**356**

Rejstřík autorů

Adamiec J. **283**
Bartošová E. 111
Basařová G. 75
Beinrohr E. **143**
Belajová E. 44
Beran M. 218
Bláha M. **75**, 84
Blažková K. 199
Bohačenko I. **30**
Bohuslávek Z. 94, **103, 107**
Borkovcová I. **207, 217**
Březina P. 57
Budajová J. 157
Buchtová V. **194**, 280
Bunčeková S. 20
Cahlíková N. 15
Calta P. **247**
Cejpek K. **139**
Cuhra P. 213
Čajka T. **262**
Čepička J. 82, 328
Čeřovský M. 15, 336
Čížková H. **48, 78,** 84, 153, 230
Čurda L. 226
Danihelková J. 345
Davídek J. 130, 283
Dobrý J. 65, 78, **182**
Dodok L. 194, **280**
Dofková M. 217
Doležal M. 247, 283, **286**, 304
Dostálek P. 88
Dostálová J. **213**
Drdák M. 57, 164, 203, 309, 340
Drexlerová M. 258
Drobná Z. **53**
Dufková M. 116
Dušek M. **222,** 230
Dzurov J. 143
Ehrenbergerová J. **186**
Eliášová K. 345
Elich O. 345

Erban V. **218**
Fabíková I. **336**
Farkaš P. 27
Ferdinandová O. 345
Fiala D. 164
Fiala J. 78, **84**
Fiedlerová V. 172, 177, 323
Filip V. 111, **135**
Fišera M. 123, **258**
Gabrovská D. **172, 177**
Gregor T. **123,** 258
Grus J. **65**, 182
Haberl A. 94
Hajšlová 91, 92, 213, 243, 253, 262, 267, 271,
Havlová P. 74, **91**, 186
Helán V. 143
Hiemer J. 309
Hladíková R. 340
Hnilová M. **340**
Hodboďová V. 345
Hofta P. 328
Holasová M. 172, 177, 323
Horáková H. 203
Houška M. 235, 239
Hozová B. 280
Hradecká D. **190**
Hrušková M. 199
Chomová Ľ. 194
Jandásek J. **69**
Jankovská R. 168
Jányi I. 274
Jarošová A. **61**
Jeleníková J. 94, 99
Karabín M. **328**
Karlová M. 345
Káš J. 276
Kazda R. **271**
Klanica M. **2**
Kocourek V. **6**, 213
Kohoutková J. **296**
Kopecký J. 332
Kopicová Z. 30
Kotrla R. 309
Koucký M. **146**

Koutná K. **126**
Kováčová M. **318**
Králová J. **253**
Královský J. 20
Krátká J. 34, 48 153, 222, **230**
Krkošková B. 209
Krupička Š. 153
Kubec R. **120**
Kučera P. 24
Kučerová J. **71**
Kučerová M. 267
Kudrna V. 146, **148**
Kuchta T. 27
Kurtová L. 48
Kůtek T. **111**
Kvasnička F. 34, 222, 230, 313
Kýhos K. 235, 239
Lacko Ľ. **44**
Landfeld A. 235, 239
Lang P. 148
Lederleitnerová J. 157
Librová I. 276
Maceková A. 318
Macová E. **209**
Majeríková I. 274
Malý J. 99, 107
Marek M. 277
Máriássyová M. **132**
Márová I. 309
Maryška M. 230
Mašková E. 172, 177
Melzoch K. 135, 313
Michalová A. 172, 177
Michovská S. 290, 345
Míková K. **10**, 283, 286
Mikulíková R. **74**
Mikušová R. 40
Milerski M. 69
Milotová J. 177
Mlázovská P. 148
Molík P. 218
Moravcová J. 226
Možná M. 24
Musah R. A. 120

Nedomová L. 177
Novák J. 84
Novotná P. 235, 239
Novotný O. **290**
Očenášková J. **332**
Opatová H. **116**
Ouhrabková J. 172, 177
Palmi P. **88**
Parkányiová J. 226
Paulíčková I. **323**
Pavlíková L. 139
Peroutka R. **243**
Petkov Ž. 276
Petríková J. 274
Piknová Ľ. **27**
Pipek P. **94, 99**, 107
Pivoňka J. **15**, 82
Plocková M. 135
Poláková M. **309**
Poledne R. 218
Prugar J. **13, 130**
Prýma J. 74
Pudil F. 65, 182
Radová Z. 91, 253
Réblová Z. 139, **345**
Rieglová P. 253
Rohánková L. 24
Roche K. 267
Ruttkay-Nedecký B. **24**
Ružičková A. **274**
Rysová J. 172, 177
Sajdok J. 276
Sarnovský L. 99
Schenková N. **277**
Schmidt Š 135
Schulzová V. **92**, 243
Skálová P. **34**
Skvrnová J. **199**
Slanec E. **3**
Slanina P. 213
Sližová M. 84
Soukupová V. 34
Standara S. **299**
Staňková J. 213

Staruch L. **157**, 194, 280
Staszková L. 190
Strohalm J. **235, 239**
Suhaj M. 44
Suchan P. **267**
Suchánek P. 218
Suchomelová L. 123
Suský J. 40
Svejkovská B. **304**
Svobodová A. 203
Svobodová J. 82
Šandová P. 276
Šerhantová V. 186
Šetková L. 262, 271
Ševčík R. 116, **153**, 230, 313, 336
Šídlová M. 78, **82**, 88
Šiška R. 280
Škaloudová P. 345
Šmidrkal J. 111, 135
Špicner J. 30
Štefanovičová A. 27
Štěpková M. 61
Štullerová Ľ. 157
Šustová K. **168**
Táborská S. **20**
Takácsová M. 318
Tovarová I. **226**
Turek B. **4**
Vaculová K. 177, 218
Valášek P. 309
Vavreinová S. 323
Velíšek J. 120, 139, 247, 290, 304, 313
Vernerová J. 78, 84
Veselý P. 75
Vespalcová M. 40, 196, **203**
Vilímková M. 345
Vítová E. **57**
Volanský P. 157
Voldřich M. 15, 34, 48, 153, 230, 277, **313**, 336
Vošmerová D. **40**
Votruba J. 88
Vranková E. 157
Vránová D. **164**, 196
Vyžralová K. 323

Winterová R. 172, 177
Zdařilová A. 203
Zemanová J. **196**, 203
Zídková J. 276
Zimolka J. 126
Žužálková L. **276**